Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale" n. 2 del 4 gennaio 1993 - Serie generale

Spedizione in abbonamento postale - Gruppo I (70%)

GAZZETTA UFFICIALE

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA **Roma - Lunedì, 4 gennaio 1993** SI PUBBLICA TUTTI I GIORNI NON FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DI GRAZIA E GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA ARENULA 70 - 00100 ROMA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - LIBRERIA DELLO STATO - PIAZZA G. VERDI 10 - 00100 ROMA - CENTRALINO 85081

N. 1

MINISTERO
DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DECRETO MINISTERIALE 22 dicembre 1992.

Metodi ufficiali di analisi per le sementi.

SOMMARIO

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DECRETI, DELIBERE E ORDINANZE MINISTERIALI

MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DECRETO 22 dicembre 1992.

Metodi ufficiali di analisi per le sementi.

IL MINISTRO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

DI CONCERTO CON

IL MINISTRO DELLE FINANZE

E

IL MINISTRO DELLA SANITÀ

Visto l'art 43 del regio decreto-legge 15 ottobre 1925, n. 2033, convertito nella legge 18 marzo 1926, n 562, riguardante la repressione delle frodi nella preparazione e nel commercio di sostanze di uso agrario e di prodotti agrari e l'art. 108 del regolamento per la esecuzione dello stesso regio decreto-legge, approvato con regio decreto-legge 1° luglio 1926, n. 1361, i quali prescrivono che le analisi occorrenti in applicazione delle norme contenute nel regio decreto-legge e nel regolamento suddetti dovranno essere eseguite, dai laboratori incaricati con i metodi di analisi prescritti da questo Ministero, di concerto con quelli delle finanze e della sanità,

Visto il decreto ministeriale 7 gennaio 1987, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n 274 del 23 gennaio 1987, con il quale sono stati approvati i «Metodi ufficiali di analisi per le sementi»;

Vista la legge 25 novembre 1971, n. 1096, concernente «Disciplina dell'attività sementiera», pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* n. 322 del 22 dicembre 1971, nonché le modifiche di cui alla legge 20 aprile 1976, n. 195, pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* n. 124 del 12 maggio 1976, al decreto del Presidente della Repubblica 8 giugno 1978, n. 373, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 199 del 18 luglio 1978, ed al decreto del Presidente della Repubblica 10 maggio 1982, n. 517, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 217 del 9 agosto 1982;

Visto il decreto del Presidente della Repubblica 8 ottobre 1973, n. 1065, contenente il «Regolamento di esecuzione della legge 25 novembre 1971, n. 1096», pubblicato nel supplemento alla *Gazzetta Ufficiale* n. 95 del 10 aprile 1974 e le relative modificazioni di cui al decreto del Presidente della Repubblica 1° ottobre 1981, n. 809, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n 8 del 9 gennaio 1982 e al decreto del Presidente della Repubblica 18 gennaio 1984, n. 27, pubblicato nel supplemento alla *Gazzetta Ufficiale* n. 79 del 20 marzo 1984;

Ritenuto necessario procedere all'aggiornamento ed all'integrazione delle metodiche analitiche di cui al citato decreto ministeriale 23 gennaio 1987;

Sentito il parere della commissione per l'aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi per i prodotti agrari e per le sostanze di uso agrario - sottocommissione per le sementi, di cui al decreto ministeriale 24 agosto 1989, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 213 del 12 settembre 1989 e successiva integrazione avvenuta con decreto ministeriale 22 novembre 1990, pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 279 del 29 novembre 1990;

DECRETA:

Art. 1

1. Sono approvati i «Metodi ufficiali di analisi per le sementi», descritti nell'allegato al presente decreto.
2. E abrogato il decreto ministeriale 7 gennaio 1987.

Art. 2

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana

Roma, 22 dicembre 1992

Il Ministro dell'agricoltura e delle foreste
FONTANA

Il Ministro delle finanze
GORIA

Il Ministro della sanità
DE LORENZO

ALLEGATO

METODI UFFICIALI DI ANALISI PER LE SEMENTI

1° - CAMPIONAMENTO

Al fine di conseguire risultati di analisi validi e ripetibili è indispensabile che il campione sia rappresentativo del lotto di seme da cui viene prelevato e che nel prelievo dei campioni venga applicata la idonea metodologia.

Le metodologie di campionamento, per l'applicazione delle leggi vigenti che disciplinano l'attività sementiera, sono indicate nel presente capitolo.

1.1. LOTTO DI SEME

Il lotto è la quantità di seme fisicamente identificabile e uniforme, di peso non superiore a quello indicato nella successiva sezione 1.1.2., a cui si riferisce un certificato di analisi.

1.1.1. Uniformità del lotto

Caratteristica distintiva del lotto è la sua uniformità, della quale deve accertarsi il tecnico che effettua il campionamento.

Qualora egli ritenga che il lotto da campionare sia disforme, la ditta deve procedere ad un rimescolamento della massa al fine di renderla uniforme; oppure, ove è possibile, l'intera massa di seme potrà anche essere ripartita in due o più frazioni, ciascuna costituente un lotto diverso.

1.1.2. Peso del lotto

Un lotto di seme non deve superare i pesi indicati, per ciascuna specie, nella colonna 3 delle tabelle di cui all'allegato I, con una tolleranza in più del 5%. I quantitativi eccedenti tali limiti costituiscono un nuovo lotto.

Per le specie non indicate nell'allegato I il peso massimo del lotto è uguale a quello delle specie con semi di analoghe dimensioni citate nella tabella stessa.

1.1.3. Identificazione del lotto

Ogni lotto di seme deve essere opportunamente marcato per poterlo identificare e distinguere da ogni altro lotto.

All'atto del campionamento tutte le confezioni costituenti un lotto devono essere contrassegnate mediante l'apposizione di etichette (anche adesive) o mediante marcatura indelebile direttamente sulla confezione e devono essere sigillate.

Una confezione deve essere considerata sigillata quando è chiaramente impossibile aprirla senza che venga distrutto il sigillo o rimanga evidente prova di manomissione (es. sacchi di plastica sigillati a caldo, barattoli di latta, ecc.).

1.2. CAMPIONAMENTO DEL LOTTO

1.2.1. Definizioni

a) Campione elementare: è la quantità di seme che proviene da ogni singolo prelievo effettuato sul lotto.

b) Campione globale: è la quantità di seme che si ottiene unendo e mescolando tutti i campioni elementari.

c) Campione medio finale di prelevamento: è la quantità di seme, di peso non inferiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle di cui all'allegato I che, prelevata con opportuni metodi dal campione globale, viene inviata al laboratorio. Dal campione globale si possono prelevare più campioni medi finali a seconda della finalità del campionamento.

d) Campione di analisi: è la quantità di seme prescritta per l'analisi, prelevata in laboratorio dal campione medio finale di prelevamento che, nel caso dell'analisi della purezza e della determinazione del numero di semi estranei, deve essere di peso non inferiore a quello indicato nelle colonne 5 e 6 delle tabelle di cui all'allegato I.

1.2.2. Frequenza di campionamento

Il numero minimo di campioni elementari da prelevare da ciascun lotto, secondo le modalità indicate nella successiva sezione 1.2.4., è il seguente:

a) Se il seme è in sacchi da 100 kg o in confezioni similari e di dimensioni uniformi:
fino a 5 confezioni: 1 campione ogni imballaggio, ma comunque non meno di 5 campioni elementari;
fino a 30 confezioni: almeno 1 campione ogni 3 confezioni e comunque non meno di 5 campioni elementari;
oltre le 30 confezioni: almeno 1 campione ogni 5 confezioni e comunque non meno di 10 campioni elementari.

b) Se le confezioni sono di peso inferiore a 100 kg, si raggruppano più confezioni fino a raggiungere l'unità di campionamento più prossima per difetto a 100 kg, (es.: 4 confezioni da 25 kg o 30 confezioni da 3 kg, o 1 confezione da 60 kg e una da 30 kg). Si procede poi come al punto a).

c) Se il campionamento è effettuato su seme sfuso (in mucchio, in cassoni, in vagoni, ecc.) o che si muove

in flusso continuo la frequenza del campionamento è la seguente:

fino a 500 kg: almeno 5 campioni elementari, fatta eccezione per i lotti inferiori a 50 kg dai quali occorre prelevare almeno 3 campioni elementari;
da 501 a 3000 kg: 1 campione elementare ogni 300 kg ma non meno di 5 campioni elementari;
da 3001 a 40000 kg: 1 campione elementare ogni 500 kg ma non meno di 10 campioni elementari.

d) Per documentata carenza o elevato costo del seme il campionamento viene effettuato in modo che, pur mantenendo le frequenze sopra indicate, si pervenga al quantitativo di seme previsto alla sezione 1.3.3 b).

1.2.3. Strumenti di campionamento o sonde

a) Sonda lunga (m 1) per sacchi:

1) Tipo per semi grossi - (es. frumento, mais, bietola) a due tubi cilindrici ruotanti l'uno internamente all'altro, divisi in 6 compartimenti rettangolari; dimensioni come da fig. 1a.

2) Tipo per semi piccoli - (es. medica, cipolla, loietto, ecc.) a due tubi cilindrici ruotanti l'uno internamente all'altro, divisi in 9 compartimenti rettangolari; dimensioni come da fig. 1b.

b) Sonda lunga (m 2) per casse, silos, ecc. - a due tubi cilindrici, ruotanti l'uno internamente all'altro,divisi in 11 compartimenti rettangolari; dimensioni come da fig.1c.

c) Sonda corta (m 0,40) - a due tubi cilindrici senza partizioni, ruotanti l'uno internamente all'altro, provvisti di un'unica apertura rettangolare lunga 230 mm, con una punta conica con vertice distante 70 mm dall'inizio della finestra e aperta all'impugnatura:

1) Tipo per semi grossi - diametro del tubo esterno 18 mm, larghezza della finestra 13 mm (fig. 1d).

2) Tipo per semi piccoli - diametro del tubo esterno 11 mm, larghezza della finestra 7 mm (fig. 1e).

d) Sonda tipo Nobbe - tubo singolo lungo approssimativamente 500 mm compresa la impugnatura di 100 mm e una punta di 60 mm. Appena sopra la punta essa presenta un'apertura ovale lunga 60 mm. Il diametro del tubo deve essere di 14 mm per i semi grossi e di 10 mm per i semi piccoli.

1.2.4. Metodi di campionamento

a) Sacchi aperti: si usa la sonda lunga introducendola, in posizione chiusa, diagonalmente fino a toccare il fondo. Quindi viene aperta, agitata leggermente per facilitare l'ingresso del seme, richiusa ed estratta.
La sonda va poi vuotata su una superficie pulita e piana in modo da poter osservare l'uniformità del seme fra i singoli compartimenti.

b) Sacchi chiusi: si usa la sonda corta sez. 1.2.3. c) o la sonda Nobbe sez. 1.2.3. d).
Queste si introducono nel sacco in direzione ascendente con un angolo di circa 30° con l'orizzontale. La prima va introdotta in posizione chiusa; poi si apre, si lascia entrare il seme, si richiude e si estrae dal sacco.
La sonda Nobbe introduce con l'apertura ovale rivolta verso il basso, si gira di circa 180° riportando il foro verso l'alto e si ritira lentamente in modo da conseguire un prelevamento uniforme per tutta la sezione esplorata.
L'introduzione della sonda nei sacchi prescelti deve aver luogo alternativamente in alto, in mezzo e in basso.

c) Piccole confezioni chiuse (di carta, di plastica, metalliche ecc.)
Ove possibile si procede al campionamento durante le operazioni di confezionamento del seme (sez. 1.2.4. e).
Diversamente si apre un numero sufficiente di contenitori, previo loro raggruppamento in unità di campionamento (sez. 1.2.2. b). Il seme residuo dei contenitori campionati può essere reintegrato nel lotto.

d) Semente alla rinfusa (mucchio, cassoni, ecc.)
Il seme prima del prelevamento va sistemato spianandolo fino a ridurlo ad uno strato di spessore uniforme non superiore a 2 m ed a base pressoché rettangolare. Il prelevamento deve essere effettuato in non meno di 5 punti diversi, dei quali uno al centro e i rimanenti 4 lungo le diagonali a 2/3 di distanza dal centro (fig. 2) o ad ogni 2 m di distanza se le diagonali superano i 6 m di lunghezza (fig. 3).

e) Semente in flusso
I prelievi devono essere eseguiti con un recipiente di sezione tale da comprendere quella del flusso, interponendolo a questo. La periodicità del prelevamento e il quantitativo di ogni prelievo saranno regolati in maniera da ottenere almeno 50 g di seme per ogni 100 Kg fluiti.

f) Sementi poco scorrevoli
Per le sementi per le quali non è possibile l'uso della sonda perché poco scorrevoli, il prelievo dei campioni si fa con strumenti diversi dalle sonde. In

questi casi i contenitori prescelti devono essere vuotati per consentire il prelievo del campione elementare procedendo come alla sezione 1.2.4. d).
Il campionamento può essere fatto anche durante il confezionamento del seme (sez. 1.2.4. e).

g) Qualunque metodo si usi, i campioni elementari devono essere fra loro confrontati per giudicare l'uniformità del lotto. In caso di manifesta disformità si opera come indicato alla sezione 1.1.1.

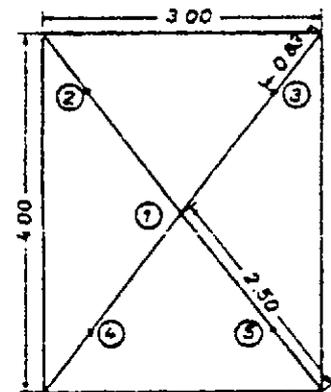
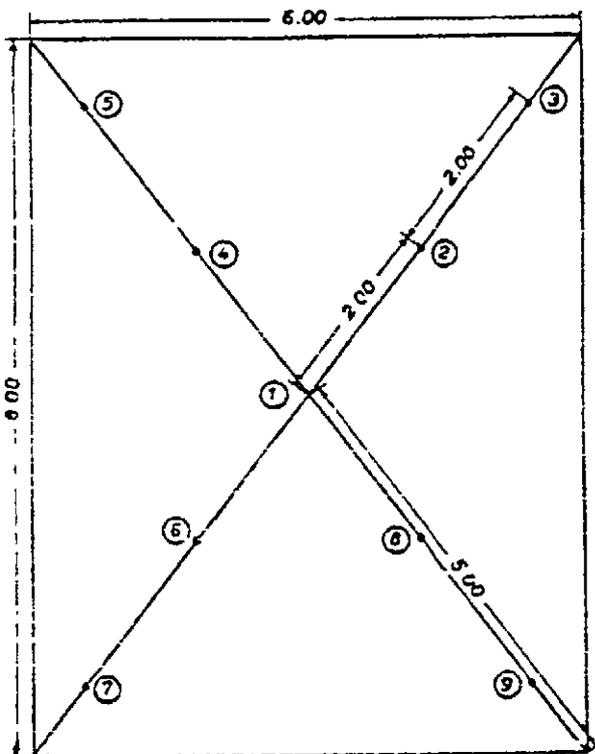



Fig. 2 - Lunghezza della diagonale (d). 5 m

$1,3 \frac{d}{2} = 0,83$ m

distanza del punto di prelevamento dal vertice

N.B. I numeri racchiusi da un cerchietto contrassegnano i punti in cui deve aver luogo il prelevamento della semente.

Fig. 3 - Lunghezza della diagonale: 10 m

1.3. FORMAZIONE DEL CAMPIONE GLOBALE E MEDIO FINALE DI PRELEVAMENTO

1.3.1. Campione globale

Per formare il campione globale si riuniscono, rimescolandoli accuratamente, tutti i campioni elementari.

1.3.2. Campione medio finale di prelevamento

Si ottiene disponendo il campione globale in uno strato di spessore uniforme su una superficie piana e pulita. Poi si prelevano quantitativi uguali di seme da non meno di 5 punti diversi dello strato, fino ad ottenere la quantità di seme prescritta per il campione medio finale di prelevamento (1.3.3.).

A tale scopo si impiega uno strumento che renda possibile il prelievo dell'intero spessore dello strato di semente nei punti prescelti.

Nel caso si debbano formare più campioni medi finali si opera altrettante volte nel modo descritto previo rimescolamento, ogni volta, del campione globale residuo.

Per la determinazione dell'umidità del seme il campione medio viene formato per primo e immediatamente dopo la formazione del campione globale; esso deve essere subito chiuso in contenitori a tenuta stagna, mentre i campioni per le altre determinazioni devono essere posti in contenitori permeabili all'aria.

1.3.3. Peso minimo del campione medio finale di prelevamento

a) I campioni destinati alle diverse analisi, esclusa quella dell'umidità, devono avere un peso non inferiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle di cui all'allegato I, salvo i casi in cui particolari norme regolamentari indichino pesi differenti.

b) Per sementi molto costose (linee parentali, ibridi F_1, ecc.) o per lotti di seme di peso inferiore o uguale a 0,1% del peso massimo indicato nella colonna 3 delle tabelle di cui all'allegato 1, i campioni devono avere un peso tale da contenere almeno 2500 semi ma comunque non superiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle sopracitate, sempre che non si debba procedere alla determinazione del numero di semi estranei.

c) I campioni destinati alla determinazione dell'umidità, devono essere di peso non inferiore a:
100 g per le specie che devono essere macinate
50 g per tutte le altre specie.

d) I campioni di miscugli dovranno avere un peso non inferiore a quello indicato nella colonna 4 delle tabelle di cui all'allegato I per la specie componente miscuglio avente semi di maggior peso unitario.

e) Nel caso in cui il campione prelevato sia di peso inferiore a quello minimo prescritto alla lettera a), per documentata carenza o costo elevato del seme, può essere effettuata ugualmente l'analisi purché sia indicato sul certificato il peso del campione.

1.4. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE DI ANALISI

I campioni di analisi devono presentare le stesse caratteristiche del campione medio finale di prelevamento cui si riferiscono e devono essere di peso non inferiore a quello indicato per ciascuna analisi.

1.4.1. Metodi di preparazione

Per ogni analisi che deve essere effettuata in doppio, il campione di analisi deve essere costituito da due sottocampioni che devono essere prelevati indipendentemente l'uno dall'altro. Dopo il prelievo del primo sottocampione, il restante seme deve essere rimescolato prima di prelevare il secondo. Allo scopo deve essere usato uno dei seguenti metodi:

a) preparazione meccanica - si usano i seguenti apparecchi:

Divisore conico (Tipo Boerner) - E' costituito da una tramoggia e da 19 canali, disposti circolarmente, che indirizzano il seme alternativamente ad uno dei due recipienti sottostanti, ottenendo così due sottocampioni necessari per l'analisi. Esso è particolarmente indicato per i semi scorrevoli.

Divisore orizzontale (Tipo Soil divider) - E' basato sullo stesso principio del divisore conico, ma i canali sono disposti su uno stesso piano orizzontale. E' particolarmente indicato per i semi poco scorrevoli (graminacee, ecc.) e per le sementi ricoperte.

Il campione medio finale di prelevamento versato nella tramoggia, scorre lungo i canali dividendosi a metà. Una delle due metà viene poi ulteriormente suddivisa e così di seguito fino a raggiungere un peso non inferiore alla metà di quello prescritto. Il rimanente seme viene rimesso tutto nella tramoggia e si ripete l'operazione per ottenere il secondo sottocampione.

b) Preparazione a mano - Dopo un preliminare mescolamento del campione medio finale di prelevamento, si versa il seme su un vassoio con un movimento oscillatorio e alternativamente in una direzione ed in quella alla prima perpendicolare, fino a coprire uniformemente la superficie del vassoio facendo attenzione di non scuotere il vassoio stesso. Con l'ausilio di una spatola o di un cucchiaio si prelevano poi piccole quantità di seme da non meno di 5 punti diversi

del vassoio, e, per ogni punto, da tutto lo spessore dello strato, fino a raggiungere un peso non inferiore alla metà di quello prescritto. Il rimanente seme viene nuovamente mescolato e versato sul vassoio come in precedenza per la preparazione del secondo sottocampione.

1.5. CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI IN LABORATORIO

Quando si devono conservare campioni di seme occorre porli in ambienti climatizzati a temperatura e umidità relativa dell'aria sufficientemente basse, comunque non superiori a 15°C ed al 50% di U.R.

2° - VERIFICA E DETERMINAZIONE DELLA SPECIE

La verifica e la determinazione della specie vengono effettuate in base alle caratteristiche del seme e, ove idonee, della plantula. Se tale verifica, in laboratorio, risulta difficile o incerta occorre, in ogni caso, determinare il genere. La determinazione della specie, qualora richiesta, può essere completata anche con prove colturali.

Nel certificato di analisi deve esse indicato il nome botanico del genere e della specie e il nome volgare quando sia conosciuto. Nel caso in cui l'indicazione della specie risulti impossibile o incerta, si deve indicare solo il nome botanico del genere. Nel caso di specie difficili da distinguere si procede come indicato nella sez. 3.4.

3° - ANALISI DELLA PUREZZA

3.1. SCOPO

L'analisi della purezza ha lo scopo di determinare le quantità di seme puro, di semi estranei e di materie inerti che costituiscono il campione, per dedurre la composizione del lotto dal quale il campione proviene.

3.2. PESO MINIMO DEL CAMPIONE DI ANALISI

a) Per le specie elencate nelle tabelle dell'allegato I, il peso del campione di analisi non deve essere inferiore a quello indicato nella colonna 5 di dette tabelle.

b) Per le specie non elencate in dette tabelle, esso deve corrispondere a quello delle specie aventi semi di peso unitario simile, salvo i casi con particolari norme regolamentari.

c) Per i miscugli si seguiranno le norme seguenti:

I - Qualora una specie o un gruppo di specie con seme di pari peso unitario siano dichiarate o valutate orientativamente come costituenti oltre il 50% del

miscuglio, il peso del campione di analisi deve corrispondere a quello indicato nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato I per quella specie o per quel gruppo di specie.

II - Qualora ciascuna specie o ciascun gruppo di specie con seme di pari peso unitario siano dichiarati inferiori od orientativamente presenti nel miscuglio in quantità inferiori al 50%, il peso del campione di analisi deve corrispondere alla media dei pesi indicati nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato I per ciascuna specie componente il miscuglio (1).

d) I due sottocampioni di analisi (sez. 1.4.1.) devono essere di peso non inferiore alla metà di quello prescritto nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato I e devono essere pesati in grammi con un numero di cifre decimali come indicato nel prospetto seguente:

Peso del campione di analisi in grammi		Numero di cifre decimali da considerare
Inferiore a	1	4
Da 1 a	9,999	3
Da 10 a	99,99	2
Da 100 a	999,9	1
Uguale o superiore a	1.000	0

3.3. DEFINIZIONI

Il campione di analisi va composto nelle seguenti frazioni:

a) seme puro;
b) semi estranei;
c) materie inerti.

---

(1) Per esempio: (I valori utilizzati sono puramente indicativi ai fini di un calcolo semplificato).

Specie componenti il miscuglio (1)	Percentuali dichiarate o valutate (2)	Percentuali arrotondate delle specie o gruppi di specie di peso diverso (3)	Pesi (g) desunti dalla colonna 5 delle tabelle dell'allegato I (4)	Col. (3) x (4)
Agrostis gigantea	5,80	6	0,5	3
Festuca rubra	15,35	40	1,0	40
Trifolium repens	24,48			
Lolium multiflorum	18,76	40	2,5	100
Medicago sativa	21,37			
Trifolium incarnatum	11,54	12	5,0	60
		98		203

Media ponderata = $\frac{203}{98}$ = 2,07

Peso minimo del campione d'analisi del miscuglio = grammi 2

3.3.1. Seme puro

Il seme puro comprende i semi della o delle specie indicate sulla confezione e/o sulla etichetta o trovate come predominanti nel campione senza distinzione fra le varietà botaniche e le cultivar della o delle specie in esame.

Esso è costituito:

a) semi intatti, anche se immaturi, raggrinziti, ammalati o germinati, purché possano essere chiaramente identificati come appartenenti alla specie, a meno che non siano trasformati in sclerozi, ricettacoli fungini o galle di nematodi;

b) pezzi di seme, di acheni, di mericarpi, di cariossidi di dimensioni superiori alla metà delle loro dimensioni originarie;

c) semi danneggiati da insetti, purché la porzione rimasta sia giudicata dall'analista superiore alla metà delle dimensioni originarie del seme. Non è necessario comunque rigirare ogni singolo seme per rilevare la presenza o l'assenza di buchi o di altre zone danneggiate anche nella parte sottostante del seme;

d) acheni o frutti similari, schizocarpi o mericarpi con o senza perianzio, senza badare se contengono o meno un vero seme, a meno che ne sia, a prima vista, chiaramente evidente l'assenza; nel caso essi vanno inclusi fra le materie inerti. Queste strutture seminali devono essere esaminate soltanto superficialmente, senza far uso di pressioni, ingrandimenti, diafanoscopi ed altri speciali attrezzi;

e) glomeruli di Beta, (eccetto le cultivar monogermi genetiche) e pezzi di glomeruli con o senza un vero seme, che sono trattenuti su un setaccio rettangolare di 200 x 300 mm, con fori rettangolari di 1,5 x 20 mm, dopo setacciatura di un minuto;

f) spighette uniflore di Lolium, Festuca, Agropyron repens con cariosside lunga almeno 1/3 della lunghezza della palea misurata alla base della rachil la negli altri generi e specie invece le spighette uniflore con cariosside di qualsiasi dimensione;

g) fiori sterili attaccati a fiori fertili nei seguenti generi: Arrhenatherum, Avena, Dactylis, Festuca, Holcus, Poa e Sorghum non devono essere staccati; si considera il tutto come seme puro. Tale procedura si applica anche ai fiori sterili attaccati del genere Lolium quando non superano l'apice del fiore fertile esclusa la resta;

h) cariossidi nude;

i) per Poa pratensis e Dactylis glomerata, qualora sia previsto il metodo con corrente d'aria uniforme, vedere sez. 3.6.;

l) semi alati di piante forestali allorché l'ala o porzione di essa faccia parte integrante del seme o sia difficilmente staccabile (ad esempio rispettivamente, Acer, Alnus, Betula, Chamaecyparis, Cupressus, Fraxinus, Abies, Libocedrus, Pseudotsuga, varie specie di Pinus);

m) unità seminali multiple. Nei seguenti generi, Dactylis e Festuca, le unità seminali multiple possono essere pesate e riportate sul certificato quando la loro presenza è superiore all'1%.

Sono definite unità seminali multiple le seguenti strutture (fig. 4):

- un solo fiore fertile con un fiore fertile o sterile attaccato che si estende anche oltre l'apice del fiore fertile escludendo la resta (8-12);
- un solo fiore fertile con più di un fiore fertile o sterile attaccato di qualsiasi lunghezza (5-7);
- un fiore fertile con attaccato alla base un fiore sterile di qualsiasi lunghezza (13).

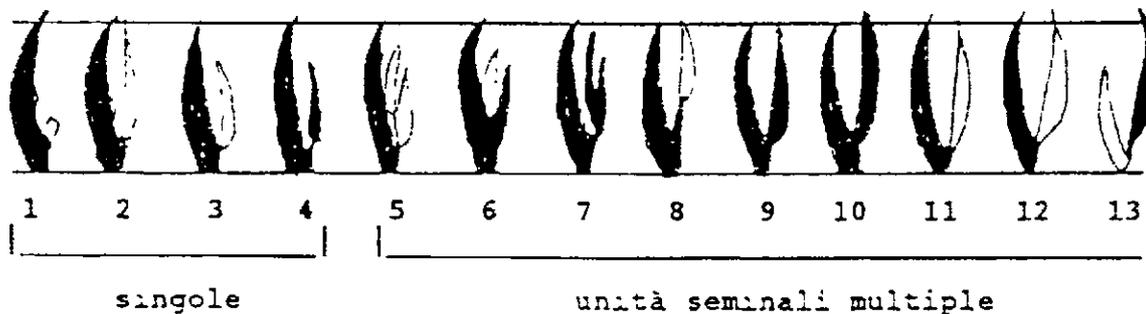



Fig. 4 - Le porzioni in nero rappresentano i fiori fertili, le porzioni in bianco rappresentano i fiori sterili.

I fiori con attaccati fiori singoli fertili o sterili che non si estendono oltre l'apice del fiore fertile, escludendo la resta sono considerati unità seminali singole (1-2-3-4). I fiori fertili o sterili attaccati non vanno rimossi (da I.S.T.A. Rules 1985).

3.3.2. Semi estranei

In questa categoria si comprendono tutti i semi e le strutture seminali di tutte le specie diverse da quella o da quelle in esame costituenti il seme puro. Ri-

guardo la loro classificazione nel gruppo degli altri semi o delle materie inerti si applicano gli stessi criteri usati per i semi puri (sez. 3.3.1.), fatta eccezione per il caso della Cuscuta spp. (sez. 3.3.3.i).

3.3.3. Materie inerti

A - Semi e strutture seminali:

a) Pezzi di semi, acheni, mericarpi e cariossidi rotte o danneggiate di dimensioni uguali o inferiori alla metà delle loro dimensioni originali;

b) i semi di Leguminosae, Cruciferae e Coniferae completamente privi di tegumento;

c) semi danneggiati da insetti purché sia evidente, a prima vista, che la porzione mancante supera la metà delle dimensioni originarie del seme (sez. 3.3.1.c);

d) strutture definite nella sezione 3.3.1. d, nelle quali sia evidente l'assenza di un vero seme;

e) glomeruli di Beta (eccetto le cultivar monogermi genetiche) e pezzi di glomeruli che passano attraverso fori rettangolari di 1,5 x 20 mm, di un setaccio rettangolare di 200 x 300 mm dopo setacciatura di un minuto;

f) spighette uniflore di Lolium, Festuca, Agropyron repens con cariosside lunga meno di un terzo della lunghezza della palea;

g) glume vuote, lemme, palee, fiori sterili staccati da quelli fertili, spighette con cariossidi di dimensioni inferiori a 1/3 della lunghezza della palea (sez. 3.3.1.f);

h) per Poa pratensis e Dactylis glomerata, per le quali è prescritto il metodo della corrente d'aria uniforme, vedere sezione 3.6;

i) semi di Cuscuta spp. che siano fragili o di colore grigio cenere fino a bianco crema;

l) ali ed altre espansioni seminali rotte e staccate;

m) ali o porzioni d'ala attaccate che non facciano parte integrante di semi forestali e che siano facilmente staccabili (2).

B - Altri materiali:

terra, foglie, steli; paglie, squame, pezzi di corteccia, boccioli fiorali, galle di nematodi, corpi fungini e ogni altro materiale che non sia seme.

(2) Le ali devono essere rimosse completamente in Cedrus, Picea, Tsuga e Pinus e parzialmente, salvo cioè quella parte che avvolge il seme ed è di difficile distacco, in Abies, Larix, Libocedrus, Pseudotsuga e alcuni Pinus

3.4. SPECIE DIFFICILI DA DISTINGUERE

Quando è possibile o difficile distinguere i semi di due o più specie, si può procedere come segue:

A - Si classificano come seme puro tutti i semi appartenenti al genere (ad es. i semi di Lolium sia mutici che aristati) indicando sul certificato di analisi solo il nome del genere (Lolium spp.).

B - Dal seme puro classificato come al punto A, vengono presi a caso, almeno 400 semi sui quali si esegue una più accurata separazione ai fini dell'individuazione della specie. Si calcolano poi le proporzioni in peso delle frazioni separate rapportandole infine al peso complessivo del campione di analisi secondo la formula seguente:

$$S = \frac{m_3 \times m_1}{m_2 \times m} \times 100$$

dove: S = percentuale in peso di una specie o frazione separata
m = peso di tutto il campione di analisi
m_1 = peso del seme puro
m_2 = peso dei 400 semi utilizzati per la separazione definitiva
m_3 = peso della specie o frazione separata da m_2.

Se è adottato questo procedimento il risultato va riportato nel certificato di analisi sotto la voce: "altre determinazioni ed osservazioni" indicando anche il numero di semi esaminati.

3.5. ESECUZIONE DELL'ANALISI

L'analisi della purezza si esegue su ciascuno dei due sottocampioni di analisi (sez. 3.2. d).
L'esecuzione dell'analisi consiste nella suddivisione del campione nelle parti indicate nella sezione 3.3. Nella separazione delle diverse parti non si deve manipolare o rivoltare ciascuno elemento, salvo i casi in cui si devono staccare le parti considerate materie inerti (sez. 3.3.3.).
E' consentito l'uso di dispositivi come la luce riflessa e setacci per separare i fiori sterili di graminacee e i frammenti di semi risultanti da rotture e da danni di insetti o di malattie. E' pure ammesso l'uso dei soffiatori per separare i costituenti leggeri, come paglie, fiori vuoti di graminacee, ecc., dai semi più pesanti.

3.6. METODO DELLA CORRENTE D'ARIA UNIFORME

Questo metodo è previsto per Poa pratensis e per Dactylis glomerata. A tale scopo si usa un "soffiatore" per semi che deve fornire una corrente d'aria uniforme e graduabile per le singole specie, suscettibile di standardizzazione e in grado di trattenere tutte le particelle separate.
L'apparecchio deve essere calibrato prima di ogni operazione per mezzo di un campione di ciascuna specie standardizzato

dall'I.S.T.A. (International Seed Testing Association). Il peso del campione di analisi è di 1 g per Poa pratensis e di 3 g per Dactylis glomerata.

3.6.1. Procedimento

Sistemato il soffiatore al punto di calibratura ottenuto con il campione standard, si sottopone il campione d'analisi alla corrente d'aria per 3 minuti frazionandolo così in due parti. Su ciascuna di queste si fa poi la valutazione dei costituenti come segue:

A - Parte pesante: sono considerati:

a) seme puro:
spighette singole complete;
tutti i fiori intatti multipli di Poa pratensis e le unità seminali multiple di Dactylis glomerata (3.3.1. m);
spighette con corpi fungini, come sclerozi interamente rinchiusi fra lemma e palea;
spighette e cariossidi danneggiate da insetti o ammalate;
spighette e cariossidi rotte di dimensioni superiori alla metà delle dimensioni originarie;

b) materie inerti:
spighette con sclerozi che escono dall'apice;
spighette e cariossidi rotte di dimensioni uguali o inferiori alla metà delle dimensioni originarie;

c) gli altri semi (compresi altre specie di Poa), frammenti vegetali, granelli di sabbia ecc., devono essere classificati secondo le sezioni 3.3.2. e 3.3.3. B.

B - Parte leggera:

tutte le spighette e le cariossidi di Poa pratensis, Dactylis glomerata e altro materiale devono essere considerate come materia inerte;
altri semi (comprese altre Poa spp. in P. pratensis), frammenti vegetali, sabbia, ecc. devono essere classificati secondo le sezioni 3.3.2. e 3.3.3. B. Quando spighette fertili di alcune Poa spp. (ex. Poa trivalis e P. compressa) sono presenti in un campione di Poa pratensis è necessario esaminare l'intera frazione leggera sotto ingrandimento. Se i semi di queste specie sono presenti in misura limitata (1-3%) è facile separarli sia dalla parte leggera sia da quella pesante e calcolare la percentuale di altri semi sulla base del peso totale. Se essi sono invece presenti in maggior misura (3-5%) si può usare il seguente metodo alternativo: spighette fertili di altre Poa spp. possono essere tolte dalla porzione pesante. Si prendono quindi a caso 400 spighette (ma preferibilmente 800 o 1000) e con l'ausilio di lenti di ingrandimento si separano

le diverse specie di Poa e quindi si determina la percentuale in peso di ciascuna.

3.7. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO

3.7.1. Calcolo

Dopo la separazione si pesano le singole parti con il numero di cifre decimali indicato nella sezione 3.2.d.

La percentuale deve essere calcolata sulla somma dei pesi dei singoli componenti dopo la separazione e non sul peso iniziale del campione di analisi; ma tale somma deve essere confrontata con il peso originario per controllare un'eventuale perdita di materiale o altri errori.

Il risultato finale è rappresentato, per ogni componente, dalla media dei valori delle due ripetizioni.

Per valutare l'esattezza della prova si deve verificare se la differenza tra i risultati delle analisi dei due sottocampioni eccede o meno la tolleranza ammessa. La verifica deve riguardare tutte e tre le parti componenti.Allo scopo si utilizza la tabella 1.

Se la differenza rientra nei limiti di tolleranza (3), per tutte le frazioni, la prova è da ritenersi valida, diversamente occorre ripetere l'analisi finché le differenze non rientrino nei limiti.

3.7.2. Espressione del risultato

Nel certificato di analisi il risultato della determinazione della purezza deve essere indicato, per ciascuna delle parti (seme puro, semi estranei e materie inerti) in percentuale del peso totale di esse. Tali percentuali si calcolano alla seconda cifra decimale e si indicano soltanto con la prima arrotondata; i cinque centesimi si arrotondano per

---

(3) Per esempio, i risultati dell'analisi in doppio di un seme di Trifoglio incarnato siano i seguenti:

	1° campione		2° campione		Risultato finale
	g	%	g	%	% media
Seme puro	4,941	98,62	5,342	97,10	97,9
Semi estranei	0,042	0,84	0,110	2,00	1,4
Materie inerti	0,027	0,54	0,050	0,90	0,7
	5,010		5,502		

Per verificare l'attendibilità dei due dati relativi al seme puro, ottenuti dalla analisi, si fa riferimento alla colonna A della tabella 1 in corrispondenza dei valori 97,75-97,99 fra i quali è compresa la percentuale 97,9 risultato finale dell'analisi stessa. La differenza massima che si legge nella colonna B della stessa tabella è di 1,54 ed è maggiore della differenza (98,62 - 97,10 = 1,52) esistente fra le due percentuali di seme puro. Tale verifica si ripete per i semi estranei e per le materie inerti, accertando l'attendibilità dei risultati ottenuti. Infatti le differenze massime ammesse nella colonna B della stessa tabella sono rispettivamente 1,26 per i semi estranei (maggiore di 2,00 - 0,84 = 1,16) e di 0,95 per le materie inerti (maggiore di 0,90 - 0,54 = 0,36). Pertanto i dati forniti dall'analisi in doppio sono attendibili e il risultato finale è il seguente: Seme puro 97,9%; semi estranei 1,4%; materie inerti 0,7%.

eccesso. I valori inferiori a 0,05 si esprimono come "Tracce" (Tr.). Se il risultato di un componente è zero, esso si dovrà indicare, nell'apposito spazio, come segue: "-0,0-". Nel caso di miscugli, il risultato dell'analisi di purezza si riferisce al miscuglio nel suo complesso. Inoltre, per tutte le specie, che sono state dichiarate componenti di miscuglio, si deve indicare il nome botanico e volgare, e per ciascuna di esse, la percentuale di seme puro riferita al totale dei pesi di tutte le parti dell'analisi della purezza del miscuglio.

Nel certificato di analisi, per quanto è possibile, si devono indicare i nomi botanici delle specie di semi estranei rinvenuti. Inoltre, se tra questi vi è una specie presente in misura pari o superiore all'1%, tale percentuale deve essere indicata a fianco del nome botanico. Quando, fra le materie inerti, si riscontrino organismi nocivi (sclerozi, larve, ecc.), se ne dovrà fare menzione nel certificato d'analisi.

Quando viene trovato nell'analisi un tipo particolare di materia inerte o specie di altri semi, o quando il contenuto in unità seminali multiple nei generi Dactylis, Festuca, è superiore all'1% o quando a richiesta di chi invia il campione di analisi venga rinvenuta una specie per più dello 0,1%, la percentuale di tali materiali può essere indicata sul certificato di analisi.

TABELLA 1

DIFFERENZE MASSIME AMMESSE FRA I RISULTATI DELLE DUE PROVE PARALLELE DI ANALISI VALEVOLI PER QUALSIASI DATO DELL'ANALISI DELLA PUREZZA (p = 0,05) da I.S.T.A. Rules, 1985

Classi di percentuali medie (A)			Differenze massime ammesse fra le percentuali relative alle due prove (B)
99,95-100,0	oppure	0,00- 0,04	0,23
99,90-99,94	"	0,05- 0,09	0,34
99,85-99,89	"	0,10- 0,14	0,42
99,80-99,84	"	0,15- 0,19	0,49
99,75-99,79	"	0,20- 0,24	0,55
99,70-99,74	"	0,25- 0,29	0,59
99,60-99,64	"	0,35- 0,39	0,69
99,55-99,59	"	0,40- 0,44	0,74
99,50-99,54	"	0,45- 0,49	0,76
99,40-99,49	"	0,50- 0,59	0,82
99,30-99,39	"	0,66- 0,69	0,89
99,20-99,29	"	0,70- 0,79	0,95
99,10-99,19	"	0,80- 0,89	1,00
99,00-99,09	"	0,90- 0,99	1,06
98,75-99,99	"	1,00- 1,24	1,15
98,50-98,74	"	1,25- 1,49	1,26
98,25-98,49	"	1,50- 1,74	1,37
98,00-98,24	"	1,75- 1,99	1,47
97,75-97,99	"	2,00- 2,24	1,54
97,50-97,74	"	2,25- 2,49	1,63
97,25-97,49	"	2,50- 2,74	1,70
97,00-97,24	"	2,75- 2,99	1,78
96,50-96,99	"	3,00- 3,49	1,88
96,00-96,49	"	3,50- 3,99	1,99
95,50-95,99	"	4,00- 4,49	2,12
95,00-95,49	"	4,50- 4,99	2,22
94,00-94,99	"	5,00- 5,99	2,38
93,00-93,99	"	6,00- 6,99	2,56
92,00-92,99	"	7,00- 7,99	2,73
91,00-91,99	"	8,00- 8,99	2,90
90,00-90,99	"	9,00- 9,99	3,04
88,00-89,99	"	10,00-11,99	3,25
86,00-97,99	"	12,00-13,99	3,49
84,00-85,99	"	14,00-15,99	3,70
82,00-83,99	"	16,00-17,99	3,90
80,00-81,99	"	18,00-19,99	4,07
78,00-79,99	"	20,00-21,99	4,23
76,00-77,99	"	22,00-23,99	4,37
74,00-75,99	"	24,00-25,99	4,50
72,00-73,99	"	26,00-27,99	4,61
70,00-71,99	"	28,00-29,99	4,71
65,00-69,99	"	30,00-34,99	4,86
60,00-64,99	"	35,00-39,99	5,02
50,00-59,99	"	40,00-49,99	5,16

4° - DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI SEMI ESTRANEI

4.1. Scopo

Scopo dell'analisi è di determinare il numero di semi estranei (sez. 3.3.2.). Tale determinazione può riferirsi ad una sola specie, a più specie, o a tutte le specie presenti, e ciò in relazione a prescrizioni legislative o ad esigenze commerciali.

4.2. Peso minimo del campione di analisi

Il peso minimo del campione di analisi è quello indicato nella colonna 6 delle tabelle dell'allegato I. Nel caso di miscugli, per la formazione del campione di analisi valgono le stesse norme indicate per l'analisi della purezza (sez. 3.2.c). Nel caso tuttavia in cui le norme legislative e regolamentari prescrivano l'assenza o la limitazione di determinate specie infestanti riferita ad un determinato peso, il peso del campione di analisi non dovrà essere inferiore a quello indicato dalle norme stesse.

4.3. Procedura

L'analisi si effettua a mano, separando dal campione tutti i semi della specie o delle specie per le quali è richiesta la determinazione. E' concesso l'uso di setacci ed altre attrezzature ausiliarie di laboratorio.

4.4. Calcolo ed espressione del risultato

Di ciascuna specie ricercata si effettua il conteggio dei semi rinvenuti nel campione. Qualora si renda necessario ripetere l'analisi occorre verificarne la validità con il calcolo della tolleranza prevista dalla tab. 2. Se la differenza riscontrata fra le due stime supera quella indicata nella colonna B della tabella, si deve ripetere l'analisi.

Il risultato finale dell'analisi è dato dal numero di semi di ciascuna specie trovato nel campione di analisi.

Nel caso di due prove riconosciute valide, il risultato finale è dato dalla media dei valori ottenuti.

Il risultato viene espresso sul certificato indicando:

a) il peso del campione analizzato;
b) il nome botanico del genere e, ove possibile, della specie ricercata e trovata e il corrispondente numero di semi.

Se la ricerca di qualche specie, espressamente richiesta, ha dato esito negativo, si deve ugualmente indicare sul certificato il risultato riportando accanto al nome della specie: "-0- semi".

Tabella 2

DIFFERENZE MASSIME AMMESSE TRA LE DUE PROVE DELLA DETERMINAZIONE DEL NUMERO DI SEMI ESTRANEI PER CAMPIONI DI ANALISI DEL MEDESIMO PESO (p = 0,05) da ISTA Rules, 1985

Media di 2 determinazioni (A)	Differenza massima ammessa (B)	Media di 2 determinazioni (A)	Differenza massima ammessa (B)	Media di 2 determinazioni (A)	Differenza massima ammessa (B)
3	5	76-81	25	253-264	45
4	6	82-88	26	265-276	46
5-6	7	89-95	27	277-288	47
7-8	8	96-102	28	289-300	48
9-10	9	103-110	29	301-313	49
11-13	10	111-117	30	314-326	50
14-15	11	118-125	31	327-339	51
16-18	12	126-133	32	340-353	52
19-22	13	134-142	33	354-366	53
23-25	14	143-151	34	367-380	54
26-29	15	152-160	35	381-394	55
30-33	16	161-169	36	395-409	56
34-37	17	170-178	37	410-424	57
38-42	18	179-188	38	425-439	58
43-47	19	189-198	39	440-454	59
48-52	20	199-209	40	455-469	60
53-57	21	210-219	41	470-485	61
58-63	22	220-230	42	486-501	62
64-69	23	231-241	43	502-518	63
70-75	24	242-252	44	519-534	64

5° - ANALISI DI GERMINABILITA'

5.1. Scopo

Scopo della prova di germinazione in laboratorio è di determinare la percentuale in numero di semi puri capaci di produrre germinelli normali potenzialmente in grado di svilupparsi in piante normali in condizioni favorevoli di coltura.

Le condizioni di germinazione descritte nel presente capitolo sono standardizzate in modo che i risultati di analisi, per uno stesso campione, possano essere riproducibili e fra loro comparabili.

5.2. Categorie di semi e loro definizioni

Le categorie dei semi, in base alla prova di germinazione, si distinguono in:

1) semi germinati con germinelli normali;

2) semi duri;

3) semi freschi non germinati;

4) semi con germinelli anormali;

5) semi morti o vani.

5.2.1. Semi germinati con germinelli normali.

Sono considerati germinelli normali quelli provvisti di organi essenziali alla vita della futura pianta. Essi si distinguono in tre categorie:

A. Germinelli intatti

A seconda della specie in esame, i germinelli intatti debbono possedere le seguenti strutture armoniosamente sviluppate:

a) sistema radicale ben sviluppato e costituito da:

- radice primaria lunga e ben formata, generalmente coperta da numerosi peli radicali e finemente appuntita;

- radici secondarie prodotte entro il periodo di prova prescritto;

- diverse radici seminali invece di una radice primaria in certi generi comprendenti Avena, Hordeum, Secale, Triticum, Triticosecale, Cyclamen;

b) asse vegetativo ben sviluppato e costituito da:

- ipocotile diritto e generalmente ben formato e allungato, (ingrossato alla base a formare il tubero in Cyclamen) nei germinelli provenienti da germinazione ipogea;

- epicotile ben sviluppato nei germinelli provenienti da germinazione epigea;

- sia ipocotile che epicotile allungati in alcuni generi con germinazione epigea (ad es. Phaseolus);

- mesocotile allungato in certi generi di Graminaceae (ad es. Zea);

c) cotiledoni in numero appropriato alla specie e cioè:

- un cotiledone nelle monocotiledoni o eccezionalmente nelle dicotiledoni (può essere verde e foglioso o modificato e totalmente o parzialmente interno al seme). In certi generi (ad es. Allium) esso è lungo e foglioso e deve formare una "ginocchiatura" ben definita;

- due cotiledoni nelle dicotiledoni (nelle specie a germinazione epigea sono verdi e simili a foglia, di forma e dimensione diversa a seconda della specie. Nelle specie a germinazione ipogea sono emisferici e carnosi e rimangono avvolti dal tegumento);

- cotiledoni in numero variante (2-18) nelle conifere, generalmente lunghi e sottili;

d) foglie primarie, verdi e distese:

- una foglia primaria, talvolta preceduta da alcune squame in germinelli con foglie alterne;

- due foglie primarie in germinelli con foglie opposte;

e) gemma terminale o apice vegetativo, di sviluppo diverso a seconda della specie in esame;

f) coleoptile diritto e ben sviluppato nelle Graminaceae, avvolgente una foglia verde che si estende fino all'apice o da esso emergente.

B. Germinelli con lievi difetti

I seguenti difetti sono considerati lievi:

- radice primaria con danni limitati o crescita lievemente ritardata;

- radice primaria difettosa ma con radici secondarie ben sviluppate nelle Leguminosae (ad es. Phaseolus, Pisum, Vicia) e Graminaceae (ad es. Zea) a seme grosso e in tutti i generi di Cucurbitaceae (ad es. Cucumis, Cucurbita, Citrullus) e di Malvaceae (ad es. Gossypium);

- soltanto due radici seminali in: Avena, Hordeum, Secale, Triticum, Triticosecale e Cyclamen purché, in quest'ultimo, l'ipocotile presenti un ingrossamento basale formante il tubero;

- ipocotile, epicotile o mesocotile con danni limitati;

- cotiledoni con danni limitati, cioè interessanti una superficie inferiore al 50% dell'area totale (= "regola del 50%") e purchè l'apice vegetativo e i tessuti circostanti risultino intatti;

- un solo cotiledone normale nelle dicotiledoni, purché l'apice vegetativo e i tessuti circostanti risultino intatti;

- tre cotiledoni invece di due (nel rispetto della "regola del 50%");

- foglie primarie con danni limitati (nel rispetto della "regola del 50%");

- una sola foglia primaria normale ad es. in Phaseolus, purchè la gemma apicale e i tessuti circostanti risultino intatti;
- tre foglie primarie invece di due, ad es. in Phaseolus, (nel rispetto della "regola del 50%");

- coleoptile con danni limitati;

- coleoptile con una fenditura che si estende dall'apice a non più di un terzo della sua lunghezza;

- coleoptile lievemente contorto o ad anello, perchè imprigionato tra lemma e palea o sotto il pericarpo;

- coleoptile con una foglia verde interna non estesa fino all'apice ma raggiungente almeno la metà della sua lunghezza.

C. Germinelli con infezioni secondarie

I germinelli seriamente deteriorati da funghi o batteri vanno classificati come normali se risulta evidente che la sorgente dell'infezione non è nel seme che li ha prodotti e se è possibile accertare che tutti gli organi essenziali erano presenti.

5.2.2. Semi duri.

Sono i semi che al termine della prova di germinazione, non sono germinati né rigonfiati, per non aver assorbito acqua.
Semi di questo tipo sono frequenti nelle leguminose Vicia ed in altre famiglie o generi come ad esempio Gossypium e Hibiscus.

5.2.3. Semi freschi non germinati.

Sono i semi che, anche dopo i trattamenti per interrompere la dormienza (sez. 5.5.2.), rimangono intatti ed apparentemente vitali senza manifestare marcescenza o ammuffimento al termine della prova di germinazione.

5.2.4. Semi con germinelli anormali (4).

Semi che, pur essendo germinati, non presentano germinelli tali da poter essere considerati normali ai termini della sezione 5.2.1., e cioè:

(4) Per una più particolareggiata descrizione e valutazione dei germinelli anormali si suggerisce la consultazione dei testi specializzati editi dall'I.S.T.A. (International Seed Testing Association).

a) germinelli danneggiati: germinelli con organi essenziali mancanti o così gravemente ed irreparabilmente danneggiati da impedirne uno sviluppo equilibrato;

b) germinelli deformati: germinelli con sviluppo debole, fisiologicamente non equilibrato o con organi essenziali deformati o sproporzionati;

c) germinelli deteriorati: germinelli con organi essenziali così ammalati o deteriorati a causa di infezione "primaria" (proveniente cioè dal seme che li ha prodotti), da pregiudicare un normale sviluppo.

In particolare uno o più dei seguenti difetti rende il germinello anormale.

I. radice primaria: (1) tozza, (2) troncata, (3) ritardata, (4) assente, (5) rotta, (6) divisa a partire dall'apice, (7) strozzata, (8) aghiforme, (9) trattenuta dai tegumenti seminali, (10) con geotropismo negativo, (11) acquosa o vitrea, (12) deteriorata a causa di infezione primaria.

radici secondarie: (13) una sola o assenti. Le radici secondarie o quelle seminali aventi i difetti sopra indicati sono anormali e non possono rimpiazzare una radice primaria anormale anche se presenti in numero elevato (ad es. Cucumis) o di due (ad es. Triticum).

II. ipocotile, epicotile e mesocotile: (1) corto e tozzo (eccetto Cyclamen), (2) non formante un tubero in Cyclamen, (3) profondamente fessurato o rotto, (4) profondamente diviso, (5) assente, (6) strozzato, (7) strettamente contorto, (8) ricurvo, (9) formante un anello o una spirale, (10) aghiforme, (11) acquoso o vitreo, (12) deteriorato a causa di infezione primaria.

III. cotiledoni (si applica la "regola del 50%"): (1) molli e arrotolati, (2) deformati, (3) spezzati o comunque danneggiati, (4) staccati o assenti, (5) alterati nel colore, (6) necrotici, (7) acquosi o vitrei, (8) deteriorati a causa di infezione primaria.
Danni o deterioramenti al punto di attacco dei cotiledoni con l'asse vegetativo o nelle adiacenze di esso, rendono il germinello anormale indipendentemente dalla "regola del 50%".
Difetti particolari nel cotiledone di Allium spp.: (9) corto e tozzo, (10) strozzato, (11) ricurvo, (12) formante un anello o spirale, (13) senza una "ginocchiatura" ben definita, (14) aghiforme.

IV. foglie primarie (si applica la "regola del 50%"): (1) deformate, (2) danneggiate, (3) assenti, (4) alterate nel colore, (5) necrotiche, (6) deteriorate a causa di infezione primaria, (7) di forma normale ma di dimensioni inferiori ad 1/4 di quella normale.

V. gemma apicale e tessuti circostanti: (1) deformata, (2) danneggiata, (3) mancante, (4) deteriorata a causa di infezione primaria.

Se la gemma apicale è difettosa o assente, il germinello è anormale anche se si sono sviluppate una o due gemme (ad es. Phaseolus) o germogli ascellari (ad es. Pisum).

VI. coleoptile e prima foglia (Graminaceae)

coleoptile: (1) deformato, (2) danneggiato, (3) assente, (4) con l'apice danneggiato o assente, (5) decisamente ripiegato, (6) formante un anello o una spirale, (7) strettamente contorto, (8) diviso a partire dall'apice per oltre 1/3 della lunghezza, (9) diviso alla base, (10) aghiforme, (11) deteriorato a causa di infezione primaria;

prima foglia (interna al coleoptile): (12) allungata per meno della metà del coleoptile, (13) assente, (14) lacerata o comunque deformata.

VII. germinello nel suo insieme: (1) deformato, (2) fratturato, (3) cotiledoni emergenti prima della radice, (4) due germinelli, fusi insieme, (5) avvolgimento persistente dell'endosperma (collare), (6) giallo o bianco, (7) aghiforme, (8) acquoso o vitreo, (9) deteriorato a causa di infezione primaria.

5.2.5. Semi morti o vani.

Sono i semi che al termine della prova di germinazione non hanno prodotto germinelli e non possono essere considerati come semi duri o semi freschi non germinati.

5.3. Attrezzature

Per l'esecuzione delle prove di germinazione si impiegano le seguenti attrezzature di laboratorio.

5.3.1. Substrati

I substrati devono essere di natura tale da assorbire l'acqua e cederla ai semi nella quantità ad essi necessaria per la germinazione. Essi possono essere di carta da filtro o di sabbia silicea.

a) Carta da filtro:

la carta da filtro deve essere resistente alla rottura, avere adeguato spessore (0,25 mm), elevata capacità di assorbimento (una striscia della larghezza di 10 mm sospesa verticalmente con il lembo inferiore immerso in acqua per 20 mm, l'acqua deve risalire in 2 minuti per non meno di 30 mm), un contenuto di ceneri non superiore al 2%, deve essere esente da sostanze chimiche dannose alla germinazione; deve avere un pH = 6.5 - 7,5 ed essere sterilizzata.

b) Sabbia:

la sabbia deve essere formata da particelle di diametro compreso tra 0,05 e 0,8 mm. Deve inoltre essere

chimicamente e biologicamente inerte, priva di sostanze tossiche, avere pH = 6,5 - 7,5 ed essere sterilizzata.

5.3.2. **Germinatoi, armadi e camere di germinazione**

A - I germinatoi hanno la funzione di mantenere il grado di umidità del substrato il più costante possibile. Pertanto è opportuno che siano muniti di coperchio o altri dispositivi, atti a prevenire perdite di umidità verso l'esterno. Essi possono essere:

a) recipienti tipo capsule Petri, di vetro o di plastica, particolarmente indicati per semi piccoli e quando si usa come substrato la carta da filtro;

b) recipienti di altro tipo, materiale, forma e dimensioni opportune, in relazione anche alle dimensioni del seme da porre in germinazione. Sono particolarmente indicati per i semi grossi e quando si usa come substrato la sabbia o la carta da filtro;

c) banchi di germinazione tipo germinatoio Jacobsen od attrezzature similari nelle quali sia assicurato il mantenimento del grado di umidità e di temperatura necessari.

B - Armadi o camere di germinazione

Sono armadi o camere nelle quali vengono realizzate le condizioni ambientali necessarie per la germinazione dei semi. Essi devono rispondere ai seguenti requisiti:

a) essere forniti di termostato regolatore con una oscillazione massima di ± 1°C e di consentire, nei casi di alternanza di temperatura, di raggiungere le temperature prescritte nel termine massimo di due ore;

b) avere la possibilità di ottenere, per le prove che richiedono la luce, una illuminazione di intensità regolabile tra 250 e 1.250 lux.

La presenza di dispositivi atti a mantenere un'umidità relativa prossima alla saturazione all'interno degli armadi o delle camere di germinazione possono contribuire a ridurre le perdite di umidità dei substrati.

5.4. CAMPIONE DI ANALISI.

a) L'analisi di germinazione deve essere eseguita su 400 semi presi dalla frazione di seme puro dell'analisi di purezza eseguita secondo le prescrizioni del cap. 3°. Allo scopo si mescolano i semi puri dei due sottocampioni dell'analisi di purezza e si contano 4 ripetizioni di 100 semi ciascuna da porre nei germinatoi.

b) Quando è richiesta soltanto la prova di germinazione si prelevano 2 sottocampioni di analisi con le stesse modalità indicate nella sezione 1.4. e ciascuno di peso non inferiore alla metà di quello indicato per l'analisi di purezza (colonna 5 dell'allegato I). Si effettua la separazione dei semi puri dai semi estranei e dalle impurità inerti con le stesse modalità indicate nella sez. 3.3.1, fino a contare 4 ripetizioni di 100 semi ciascuna.

c) Quando le dimensioni dei semi non consentono una sufficiente spaziatura nei germinatoi, ogni ripetizione può essere suddivisa in 2 sottoripetizioni di 50 semi ciascuna o in 4 di 25 semi ciascuna.

d) Per le specie che sono poco rappresentate nei miscugli può accadere di non trovare tra i semi puri dei due sottocampioni dell'analisi della purezza i 400 semi necessari per la prova di germinazione.

In questo caso si dovranno separare anche dalla rimanenza del campione medio finale di prelevamento tanti semi puri fino ad ottenere il numero di semi prescritto. Nel caso che tale numero non venga raggiunto, la prova di germinazione è effettuata sulla totalità dei semi ottenuti, suddivisi in 4 ripetizioni uguali; in questo caso sul certificato di analisi deve essere indicato il numero effettivo di semi di ciascun componente sottoposto alla prova.

5.5. ESECUZIONE DELL'ANALISI.

I semi devono essere messi nel germinatoio in modo da evitare il contatto reciproco dei germinelli e devono essere posti nelle condizioni di germinazione generali e particolari prescritte (allegato II).

I semi devono essere messi nel germinatoio nello stato in cui pervengono al laboratorio.

5.5.1. Condizioni generali:

A - Substrato.

Per ogni tipo di seme deve essere usato un adeguato tipo di substrato, come indicato nella col. 2 delle tabelle dell'allegato II.

a) Carta da filtro.

Può essere usata nei seguenti modi:

C (su carta da filtro). I semi sono messi a germinare su uno o più dischi di carta da filtro posti nei germinatoi (sez. 5.3.2.);

TC (tra carta da filtro). I semi sono messi a germinare tra due dischi o strati di carta da filtro posti in germinatoi come sopra;

CP (carta da filtro pieghettata). I semi sono messi a germinare tra le pieghe di una striscia di carta da filtro lunga 200 cm, larga 11 cm. Ogni striscia porta 50 pieghe alte 2 cm. Disposti i semi, il tutto può essere avvolto in un'altra striscia di carta da filtro lunga 58 cm e larga 11 cm e posto in germinatoio. La carta pieghettata deve avere un peso di 100-200 g per m^2 ed un potere assorbente di acqua del 220-240%. La striscia avvolgente deve pesare 60 g per m^2 ed avere potere assorbente di acqua del 220-240%.

b) Sabbia silicea.

Può essere usata come segue:

S (in sabbia). I semi sono posti su uno strato uniforme di sabbia umida e coperti con un altro strato di 10-20 mm di sabbia;

SS (su sabbia). I semi sono posti e leggermente pressati su uno strato uniforme di sabbia umida.

B - Umidità.

Per tutta la durata della prova il substrato deve contenere un grado di umidità sufficiente per la germinazione dei semi e non deve mai essere in eccesso.

Tre sono i gradi di umidità raccomandati: elevato (e), medio (m), scarso (s). Nella colonna 3 delle tabelle dell'allegato II sono indicati, per ciascuna specie e per il relativo substrato, i gradi di umidità da mantenere per la prova di germinazione.

Per la carta da filtro il grado elevato di umidità si ottiene immergendo il disco o il foglio completamente in acqua e disponendolo subito, senza sgocciolarlo, sul fondo del germinatoio; il grado medio di umidità si ottiene immergendo completamente il disco o il foglio nell'acqua contenuta in una vaschetta, indi si estrae strisciandolo lungo la parete del recipiente per eliminare l'eccesso di acqua prima di disporlo sul fondo del germinatoio; il grado scarso si ottiene immergendo il disco o il foglio a metà nell'acqua e disponendolo senza sgocciolarlo sul fondo del germinatoio.

Per la sabbia i tre livelli di umidità corrispondono al 60% (elevato), 50% (medio), 40% (scarso) della capacità idrica di ritenuta della sabbia usata.

Il grado di umidità del substrato deve essere mantenuto costante per tutta la durata della prova; bisogna quindi controllarlo frequentemente e ripristinarlo, se necessario, con successive aggiunte di acqua.

C - Temperatura.

Le temperature prescritte per ogni specie di seme sono indicate nella col. 4 delle tabelle dell'allegato II e devono essere uniformi in tutto l'ambiente di germinazione (armadi termostatici, camere di germinazione, ecc.).

Le temperature possono essere:

a) costanti durante le 24 ore giornaliere: esse sono indicate con un solo numero;

b) alternate nelle 24 ore giornaliere: esse sono indicate con due numeri separati da una lineetta. In questo caso la temperatura più alta viene usata per 8 ore giornaliere e la più bassa per le rimanenti 16 ore.

D - Luce

Le specie che, per germinare, richiedono la luce, devono essere poste in ambienti con luce naturale o artificiale.

Nella colonna 5 delle tabelle dell'allegato II sono contraddistinte con una L le specie per le quali è prescritta la luce. Si raccomanda in proposito l'uso di lampade a luce bianca e fredda. I semi devono essere esposti alla luce per almeno 8 ore al giorno e in concomitanza con la temperatura più alta per le specie che richiedono l'alternanza di temperatura.

L'intensità della luce deve essere di circa 750-1.250 lux; per i semi non dormienti può essere sufficiente anche una intensità di 250 lux.

5.5.2. Trattamenti speciali

Per i campioni che presentano semi freschi o dormienti si adottano uno o più dei seguenti trattamenti speciali, come indicato nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

L'impiego di questi trattamenti speciali deve essere indicato sul certificato di analisi.

I trattamenti speciali sono:

a) Prerefrigerazione.

Essa consiste nell'esporre preventivamente i semi, già posti sul substrato umido, alle temperature e per i periodi di tempo indicati per ciascuna specie nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

I giorni della prerefrigerazione non devono essere conteggiati ai fini della durata della prova. Talvolta può anche essere necessario prolungare il periodo di

prerefrigerazione o refrigerare di nuovo dopo il primo conteggio dei semi germinati:

b) Nitrato potassico (KNO_3).

All'inizio della prova il grado di umidità richiesto viene raggiunto inumidendo il substrato con una soluzione di nitrato potassico allo 0,2% di acqua distillata. Per le aggiunte successive, necessarie al ripristino dell'umidità, si impiega acqua normale.

c) Acido gibberellico (GA_3).

Il substrato di germinazione è inumidito con una soluzione di GA_3 a 500 ppm, preparato sciogliendo 500 mg di GA_3 in un litro di acqua distillata. Quando la dormienza è più debole la concentrazione può essere limitata a 200 ppm; quando essa è più accentuata la concentrazione può arrivare a 1000 ppm.

Se la concentrazione supera 800 ppm, si può sostituire l'acqua con una soluzione tampone 0,01M, preparata sciogliendo 1,7799 g di Na_2HPO_4 e 1,3799 g di $NaH_2PO_4.H_2O$ in un litro di acqua distillata.

d) Prova a temperature diverse.

Talvolta può essere necessario effettuare la prova ad una temperatura diversa da quella normalmente prescritta. Queste sono indicate nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II. Se a temperatura più bassa, il processo germinativo si svolge più lentamente la durata della prova può quindi essere prolungata fino a 7 giorni.

e) Prelavaggio.

Quando i semi contengono sostanze naturali che possono inibire la germinazione, è necessario rimuoverle immergendo e lavando i semi in acqua alla temperatura di 20-25°C per i tempi indicati nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

f) Preessiccamento.

Prima di essere posti nelle condizioni prescritte per la germinazione, i semi delle ripetizioni sono tenuti ad una temperatura non superiore a 40°C con libera circolazione di aria e per un periodo massimo di 7 giorni. In alcuni casi può essere necessario prolungare la durata del preessiccamento.
Sul certificato d'analisi dovrà essere indicata, oltre alla temperatura, anche la durata di tale trattamento.

g) Prova con substrato diverso.

Per certe varietà di determinate specie l'uso di un substrato diverso da quello indicato nella colonna 2 delle tabelle dell'allegato II risulta più efficace. Questo è indicato nella colonna 8 delle tabelle dell'allegato II.

5.5.3. Durata dell'analisi.

I giorni della prima e dell'ultima conta sono indicati nelle colonne 6 e 7 delle tabelle dell'allegato II.

Quando i semi sono sottoposti a refrigerazione, i giorni richiesti per il trattamento sono esclusi dal conteggio dei giorni prescritti per l'analisi.

Se al termine del periodo di analisi alcuni semi hanno appena iniziato la germinazione, l'analisi può essere prolungata per altri sette giorni al massimo.

L'analisi può essere conclusa anche prima del termine prescritto quando nessun altro seme, fra quelli rimasti, risulta suscettibile di germinare ulteriormente.

I giorni indicati per il primo conteggio possono subire variazioni a discrezione dell'analista; l'importante è che i germinelli abbiano raggiunto uno stadio di sviluppo tale da poter consentire una corretta osservazione e valutazione delle loro strutture essenziali.

Possono essere fatti anche conteggi intermedi per togliere i germinelli che hanno raggiunto un sufficiente stadio di sviluppo, ma il loro numero deve essere ridotto al minimo per evitare danni ai germinelli in incipiente accrescimento.

In certi casi, ad es. prova in sabbia (S), può essere conveniente eseguire solo il conteggio finale.

Se le sementi arboree ed arbustive al termine della prova presentano ancora semi dormienti, si deve o prolungare la durata della prova o sezionare il seme ed osservare lo stato dell'embrione e dei tessuti circostanti o ricorrere alla prova biochimica al tetrazolo (cap. 6°).

Il numero effettivo di giorni impiegato per giungere al risultato finale deve essere indicato nel certificato di analisi.

5.5.4. Valutazione dei semi germinati e non germinati.

Per un'esatta determinazione della percentuale della germinabilità, è necessario valutare attentamente i semi in prova ricordando le definizioni date alla sezione 5.2.

Nel corso del primo conteggio e di quelli intermedi (sez. 5.5.3.) devono essere rimossi solo i semi che hanno dato germinelli normali e quelli evidentemente morti e

ammuffiti che possono essere fonte di contaminazione per quelli sani. Una esatta valutazione dei semi germinati può essere fatta solo quando i germinelli hanno raggiunto uno stadio di sviluppo sufficiente per accertare se posseggono i requisiti necessari per essere considerati normali. Talvolta è necessario rimuovere il tegumento del seme per esaminare la piumetta ed i cotiledoni che, al momento del conteggio finale, vi fossero inclusi. In particolare, l'esame dei cotiledoni in alcune specie (per es. Phaseolus), deve essere fatto previo divaricamento degli stessi, quando siano ancora a contatto fra loro, per controllare eventuali manifestazioni di necrosi interne e le condizioni della piumetta.

I campioni trattati chimicamente che presentano nelle prove su carta anomalie dei germinelli, per probabile fitotossicità, vanno riesaminati ripetendo la prova con sabbia.

Le strutture a semi multipli (ad esempio semi polispermi, glomeruli di barbabietola e spighette pluriflore di graminacee) comprese nella frazione del seme puro (sez. 3.3.1.) devono essere considerate, ai fini dell'analisi di germinabilità, cone singoli semi. Il risultato dell'analisi indica la percentuale di strutture che hanno prodotto almeno un germinello normale.

Un seme di pianta forestale che produce più germinelli per effetto della poliembrionia deve essere contato come un singolo seme. Quando i semi a più embrioni superano il 5%, si deve indicare la percentuale esatta sul certificato d'analisi.

Per le specie con strutture a seme multiplo, qualora sia richiesta anche la determinazione del grado di germia (es. barbabietole), nell'analisi di germinazione si deve adottare un metodo (es. CP) che consenta, per il sufficiente distanziamento delle strutture seminali, il conteggio di tutti i germinelli da esse prodotti.
Si determina così il numero di strutture che hanno prodotto uno, due o più germinelli normali e di ciascun gruppo viene indicata la percentuale sul numero complessivo di strutture germinate.

5.6. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO.

5.6.1. Calcolo del risultato.

Il risultato dell'analisi di germinabilità è dato dal valore medio dei risultati ottenuti dalle quattro ripetizioni (sez. 5.4.a.).

Nel caso in cui si devono eseguire più sottoripetizioni (sez. 5.4.c.), queste si raggruppano in modo da ottenere le 4 ripetizioni di 100 semi ciascuna.

Si verifica poi l'attendibilità della prova usando la tabella 3.

Quando la differenza fra il risultato più elevato e quello più basso delle quattro ripetizioni, rispetto al loro valore medio, rientra nei limiti indicati nella colonna 3 della tabella suddetta, la prova risulta statisticamente valida e la media dei risultati delle quattro ripetizioni rappresenta il valore definitivo che deve essere riportato sul certificato di analisi.

Il risultato non è considerato valido e le prove devono essere ripetute quando:

a) le differenze fra le ripetizioni escono dai limiti di tolleranza indicati nella tabella 3;

b) quando è evidente che i risultati non sono soddisfacenti a causa di errate condizioni di analisi, intervenute anche per brevi periodi, o di errate valutazioni dei germinelli o di altri fattori accidentali;

c) quando è evidente che il risultato non può essere accettabile a causa di dormienza dei semi, di fitotossicità o di diffusione di funghi e batteri.

Nel caso di ripetizione dell'analisi, se il secondo risultato è compatibile con il primo, la media di entrambe le analisi rappresenta il risultato definitivo che deve essere riportato sul certificato.

I due risultati sono fra loro compatibili se la loro differenza, rispetto alla loro media, rientra nei limiti di tolleranza prescritti nella colonna 3 della tabella 4. Nel caso di incompatibilità si deve fare un'altra analisi e tenere valido, come risultato definitivo, la media fra i due compatibili.

TABELLA 3

TOLLERANZE MASSIME AMMESSE FRA LA PERCENTUALE DI GERMINAZIONE PIU' ALTA E QUELLA PIU' BASSA, DI QUALSIASI CATEGORIA DI SEMI OTTENUTE NELLE QUATTRO RIPETIZIONI DELLA PROVA DI GERMINAZIONE ($p = 0.025$) da I.S.T.A. Rules, 1985

Percentuale media di germinazione		Tolleranza massima	Percentuale media di germinazione		Tolleranza massima
99	2	5	87-88	13-14	13
98	3	6	84-86	15-17	14
97	4	7	81-83	18-20	15
96	5	8	78-80	21-23	16
95	6	9	73-77	24-28	17
93-94	7-8	10	67-72	29-34	18
91-92	9-10	11	56-66	35-45	19
89-90	11-12	12	51-55	46-50	20

TABELLA 4

TOLLERANZE MASSIME AMMESSE NELLE DIFFERENZE DI RISULTATI FRA DUE ANALISI ESEGUITE SULLO STESSO CAMPIONE (p = 0.025) da I.S.T.A. Rules, 1985

Percentuale media di germinazione		Tolleranza	Percentuale media di germinazione		Tolleranza
98-99	2-3	2	77-84	17-24	6
95-97	4-6	3	60-76	25-41	7
91-94	7-10	4	51-59	42-50	8
85-90	11-16	5			

5.6.2. Espressione del risultato.

Il risultato dell'analisi di germinazione deve essere espresso indicando sul certificato di analisi la durata effettiva della prova (in giorni), escludendo dal conteggio i giorni richiesti per eventuali pretrattamenti, nonchè il dato percentuale dei germinelli normali, dei germinelli anormali, dei semi duri, dei semi freschi non germinati e dei semi morti. Dette percentuali devono essere espresse da numeri interi, arrotondando per eccesso i decimali uguali o superiori a 0,5 e per difetto quelli inferiori.

Nel caso di miscugli, accanto al nome botanico di ciascuna specie, che è stata dichiarata come componente del miscuglio, si deve indicare la corrispondente percentuale di semi germinati con germinelli normali e, per le specie che ne contengono, la percentuale di semi duri. Quando la prova è stata eseguita su un numero di semi minore di 400 (sez. 5.4.d.) questo numero dovrà essere precisato nel certificato di analisi.

Quando sia necessario ricorrere a trattamenti speciali (sez. 5.5.2.) bisogna indicare nel certificato di analisi i trattamenti effettuati.

Nel caso di semi forestali si deve riportare sul certificato di analisi, la percentuale di semi vani.

6° - DETERMINAZIONE DELLA VITALITA' DEL SEME CON SAGGIO BIOCHIMICO (Prova al Tetrazolo)

Questa determinazione (5) ha per scopo la stima della vitalità dei semi di alcune specie arbustive ed arboree che germinano troppo lentamente, (oltre 2 mesi incluso il periodo di prerefrigerazione) quando vengono analizzate con le normali prove di germinazione, o che presentano, al termine della prova di germinazione, semi dormienti di cui si deve determinare la vitalità (sez. 5.5.2.).

Le specie per le quali è ammessa questa determinazione sono: Acer spp., Carpinus spp., Celtis australis, Chamaecyparis thyoides, Cornus mas e C. sanguinea, Corylus spp., Crataegus spp., Elaeagnus angustifolia, Evonymus europaea, Fagus sylvatica, Fraxinus spp., Juniperus spp., Libocedrus decurrens, Ligustrum vulgare, Liriodendron tulipifera, Malus spp., Ostrya spp., Pinus spp., Prunus spp., Pyrus spp., Rosa spp., Sorbus spp., Taxodium disticum, Taxus spp. e Tilia spp.

6.1. CAMPIONE D'ANALISI.

La prova viene eseguita su 4 ripetizioni, ciascuna di 100 semi (o frutti) puri, prelevate secondo le direttive date per l'analisi della germinabilità (sez. 5.4.).

6.2. ESECUZIONE DELL'ANALISI.

6.2.1. Indicazioni generali.

Per questa determinazione si impiega una soluzione acquosa all'1% di 2,3,5,cloruro-trifenil-tetrazolo. I semi di ciascuna delle 4 ripetizioni devono venire immersi nella soluzione al tetrazolo e conservati al buio alla temperatura di 30°C ± 1, a meno che non si tratti di specie per le quali le direttive particolari prevedano un grado di temperatura diverso, e per un periodo di tempo variabile a seconda della specie (sez. 6.2.2.).

Terminato il trattamento al tetrazolo, la soluzione viene decantata ed i semi vengono risciacquati con acqua per procedere poi all'esame della colorazione assunta dall'embrione e dall'endosperma.

---

(5) Il saggio biochimico si basa sui processi di riduzione che avvengono nei tessuti viventi del seme a carico di un indicatore, il 2, 3, 5, trifeniltetrazolo-cloruro o bromuro, che, per idrogenazione, dà origine ad una sostanza, il trifenilformazano, rossa, stabile e non diffusibile; ciò permette di distinguere le parti vitali, colorate in rosso, da quelle non vitali, senza colore. La posizione e la proporzione delle aree necrotiche dell'embrione e dell'endosperma permettono la determinazione della vitalità del seme. Per questi motivi il metodo è anche chiamato Metodo Topografico al Tetrazolo.

Per questo esame è necessario stendere i semi di ciascuna ripetizione su una piastra, per metà bianca e per metà nera e mantenerli umidi durante il corso dell'operazione.

6.2.2. Indicazioni particolari.

Oltre alle direttive generali testè descritte ve ne sono altre, particolari, per ciascuna delle specie sottoindicate, che precisano le tecniche da seguire e i criteri di valutazione dei risultati:

a) Acer spp.

Si rimuove dal seme il pericarpo con l'ala. I semi vengono quindi tenuti in acqua per 18-20 ore, quando il seme è secco si consiglia un trattamento di prerefrigerazione a 3-5°C per sette giorni. Si libera l'embrione dalla pellicola servendosi di una lancetta per dissezione. Con un bisturi sottile si tagliano 0,5 mm della punta della radichetta e dei cotiledoni dalla parte opposta alla radichetta. I semi così preparati si immergono nella soluzione al tetrazolo per 24 ore.

Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta, se questo non oltrepassa la metà della lunghezza della radichetta;

3) embrione con macchie incolori sulla metà dei cotiledoni opposta alla radichetta;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche indicate in 2 e 3.

b) Carpinus spp. e Ostrya spp.

Si devono tenere i frutti in acqua per 18-20 ore. Per mezzo di piccole e robuste cesoie si rimuove il terzo inferiore dell'achenio, cioè la porzione più slargata al di sopra della cicatrice basale che è opposta alla radichetta. Si immerge la parte dell'achenio che contiene la radichetta nella soluzione al tetrazolo per 24 ore. Si estrae poi l'embrione dai tegumenti per mezzo di una lancetta da dissezione.
Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie incolori sulla porzione dei cotiledoni che è opposta alla radichetta, se queste non oltrepassano la metà del cotiledone nel caso di necrosi superficiale e il terzo del cotiledone quando si tratti di necrosi profonda;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche indicate in 2 e 3.

c) Celtis australis L.

Si liberano i semi dalla polpa, quando questa è presente, dopo averli tenuti in acqua per 18-20 ore, asciugandoli poi sommariamente con carta da filtro. Si rompe il guscio con una morsa ad alveoli di dimensione opportuna. Si tengono i semi, così preparati, in acqua per 18-20 ore. Si libera l'embrione dalla pellicola, servendosi di una lancetta da dissezione, se l'operazione precedente non l'ha completamente rimossa. Si immergono gli embrioni nella soluzione di tetrazolo per 24 ore.
Sono da considerare vitali i semi che presentano l'embrione completamente colorato. Sono tollerate piccole necrosi superficiali nella metà dei cotiledoni opposta alla radichetta.

d) Chamaecyparis thyoides L. (B.S.P.)

Si tengono i semi in acqua per 18-20 ore. Si rimuove un quarto del seme dalla parte basale, opposta alla radichetta, mediante un bisturi sottile. I semi così trattati vengono immersi per 24 ore nella soluzione al tetrazolo. Si libera l'endosperma dai tegumenti seminali mediante una lancetta da dissezione e si separa l'embrione.
Vanno considerati vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

e) Cornus mas L. e Cornus sanguinea L.

Si tengono i semi in acqua per circa 48 ore. Con l'aiuto di piccole e robuste cesoie si taglia un terzo del seme dalla parte basale opposta alla radichetta. Si immergono i semi così preparati nella soluzione al tetrazolo per 48 ore. Servendosi di una lancetta da dissezione si estrae l'embrione dagli involucri seminali e dal sottile endosperma.
Sono da considerare vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta.

f) Corylus spp.

Si tengono le nocciole in acqua per 18-20 ore. Si rompe il guscio con una morsa o con una pinza per liberare i semi che vengono poi immersi in acqua per 18-20 ore. Si rimuovono i tegumenti seminali scuri con una lancetta da dissezione e si divide il seme in due parti lungo la linea di separazione dei cotiledoni. Si immergono nella soluzione di tetrazolo per 24 ore solo i cotiledoni che presentano radichetta e piumetta.
Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie scolorate sul cotiledone se queste non superano la metà del cotiledone opposto alla radichetta e con necrosi nel centro della parte ventrale del cotiledone se il diametro della macchia non supera il raggio del cotiledone;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

g) Cotoneaster spp., Crataegus spp. e Rosa spp.

Si fanno rigonfiare i semi in acqua per 18-20 ore. Per mezzo di fini e robuste cesoie si rimuove la parte basale del seme, un terzo o poco più, cioè la parte più larga che contiene l'ilo e che è opposta alla radichetta. Si immergono i semi così preparati nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Si estrae, per mezzo di una lancetta, l'embrione dagli involgi seminali.
I semi da considerare vitali sono quelli che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie bianche nella porzione dei cotiledoni opposta alla radichetta, se queste non interessano più della metà del cotiledone quando si tratti di necrosi superficiali o più di un terzo del cotiledone nel caso di necrosi profonda;

4) embrione che riunisce contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

h) Eleagnus angustifolia L.

Si mettono i semi in acqua per 18-20 ore. Mediante piccole cesoie si taglia un terzo del seme dalla parte basale opposta alla radichetta. Si immerge il seme così preparato nella soluzione al tetrazolo per 24 ore.
Si rimuove l'embrione dai tegumenti seminali e dal rudimentale endosperma con una lancetta da dissezione.
Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie scolorate sulla metà superiore dei cotiledoni opposta alla radichetta;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

i) Evonymus europaea L.

Si mettono i frutti in acqua per 18-20 ore. Si rimuove la polpa dal seme e con piccole cesoie si taglia un terzo della parte basale opposta alla radichetta. Si mette il seme così preparato nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Mediante una lancetta da dissezione si rimuove il tegumento seminale e si pone il seme senza tegumento in acqua ancora per 3 ore.
Indi si rimuove la sottile pellicola procedendo dal taglio verso l'estremità del seme. Si apre l'endosperma e si libera l'embrione.
I semi da considerare vitali sono quelli che presentano embrione ed endosperma colorati completamente.

k) Fagus sylvatica L.

Si immergono i frutti nell'acqua per 18-20 ore. Si rimuove il pericarpo e si pongono i semi in acqua per un ulteriore periodo di almeno 6 ore. Con l'aiuto di una lancetta da dissezione si rimuove il tegumento e si pongono i semi nella soluzione di tetrazolo per 24 ore.

Si considerano vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con macchia non colorata all'estremità della radichetta superiore ad un terzo della parte visibile della radichetta;

3) embrione con macchie non colorate sulla metà superiore dei cotiledoni opposta alla radichetta, senza macchie non colorate sulla superficie esterna ed interna della metà inferiore dei cotiledoni. I cotiledoni devono essere aperti per rilevare eventuali macchie senza colore;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

l) Fraxinus spp.

Si rimuove il pericarpo con l'ala. I semi vengono quindi tenuti in acqua per 18-20 ore. Si asporta una striscetta di endosperma larga circa 1 mm da entrambi i fianchi del seme. Si immergono i semi così trattati nella soluzione di tetrazolo per 24-48 ore. Si apre l'endosperma nelle sue due metà per mezzo di una lancetta, mettendo allo scoperto l'embrione.
Sono da considerare vitali i semi che presentano:

1) embrione ed endosperma completamente colorati;

2) embrione completamente colorato, ma endosperma con macchie non colorate alla sua periferia e quindi in zone distanti dall'embrione.

m) Juniperus spp.

Si deve rimuovere la polpa della pseudobacca per liberare i semi, che vengono poi immersi in acqua per 18-20 ore. Si rimuove un quarto del seme dalla parte basale, opposta alla radichetta, mediante piccole robuste cesoie. I semi così trattati vengono immersi nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Si libera l'endosperma includente l'embrione dai tegumenti seminali mediante una lancetta da dissezione. Si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.
Sono da considerare vitali soltanto i semi che presentino embrione ed endosperma completamente colorati.

n) Libocedrus decurrens Torr.

Si rimuove l'ala del seme secco. Si tagliano 1-2 mm dalla parte terminale del seme opposta all'ala. Si fanno rigonfiare i semi così preparati in acqua per 18-20 ore, indi si pongono nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Con l'aiuto di una lancetta da dissezione si tolgono i tegumenti seminali, si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.
Sono da considerare vitali i semi che presentino embrione ed endosperma completamente colorati.

o) Ligustrum vulgare L.

Si immergono i semi in acqua per 18-20 ore. Mediante piccole cesoie si taglia un quarto di seme dalla parte opposta alla radichetta ed i semi così preparati si pongono nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Con una lancetta si rimuovono endosperma ed embrione dai tegumenti seminali, si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.
Si considerano vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

p) Liriodendron tulipifera L.

Si taglia l'ala dal frutto secco e si immergono i semi in acqua per 18-20 ore. Si asportano 2-3 mm dalla parte terminale del seme opposta all'ala. I semi così preparati vengono posti nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Rimossi pericarpo e tegumenti seminali si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.
Sono da considerare vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

q) Malus spp., Pyrus spp. e Sorbus spp.

Si rimuove la polpa, se presente, per liberare i semi, che vengono poi fatti rigonfiare in acqua per 18-20 ore. Per mezzo di una lancetta da dissezione si rimuovono entrambi i tegumenti seminali, in modo da mettere a nudo l'embrione. Si immergono quindi gli embrioni nella soluzione di tetrazolo per 18-20 ore.
Vanno considerati vitali i semi aventi:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'estremità della radichetta;

3) embrione con macchie non colorate sulla porzione dei cotiledoni opposta alla radichetta purchè esse non superino la metà o un terzo del cotiledone, a seconda che si tratti rispettivamente di necrosi superficiale o profonda;

4) embrione che presenta contemporaneamente le caratteristiche 2 e 3.

r) Pinus cembra L., P. coulteri D. Don e P. koraiensis Sieb. et Zucc.

Si rompe e si rimuove il guscio legnoso per mezzo di una pinza o di una morsa. Si tengono i semi così preparati in acqua per 18-20 ore. Si libera l'endosperma dal sottile tegumento seminale interno con una lancetta da dissezione. I semi così trattati vengono messi in soluzione di tetrazolo per 48 ore. Si apre l'endosperma e si separa l'embrione.
Sono da considerare vitali i semi aventi embrione completamente colorato e ben sviluppato, cioè occupante almeno la metà della cavità embrionale, nonchè l'endosperma completamente colorato.

s) Pinus heldreichii Christ., P. jeffreyi Grev. et Balf., P. lambertiana Dougl., P. monticola Dougl., P. parviflora Sieb. et Zucc., P. peuce Griseb., P. pumila Beg. e P. strobus L.

Con l'aiuto di un piccolo bisturi si tagliano 2-3 mm della parte terminale della radichetta del seme secco. Si fanno rigonfiare i semi così trattati in acqua per 18-20 ore, indi si mettono nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Mediante una lancetta da dissezione si tolgono i tegumenti seminali, si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.
Vanno considerati vitali i semi che presentano embrione ed endosperma completamente colorati.

t) Prunus spp.

Si rimuove la polpa se è presente, poi si rompe il guscio con una morsa. I semi vengono immersi in acqua per 18-20 ore. I semi molto secchi non vanno immersi in acqua, ma debbono essere posti per una notte fra due fogli di carta da filtro bagnata o su sabbia bagnata per permetterne il graduale rigonfiamento. E' consigliabile scarificare i semi dalla parte opposta della radichetta prima di passarli in acqua o su substrati bagnati per farli rigonfiare. Si rimuovono i tegumenti residui che avvolgono l'embrione per mezzo di una lancetta da dissezione e si mettono gli embrioni nella soluzione di tetrazolo per 18-20 ore.

Vanno considerati vitali i semi che presentano:

1) embrione completamente colorato;

2) embrione con punto non colorato all'apice della radichetta;

3) embrione con macchie non colorate nella porzione dei cotiledoni opposta alla radichetta purchè esse non superino la metà o un terzo del cotiledone, rispettivamente nel caso di necrosi superficiale o profonda;

4) embrione con le caratteristiche 2 e 3 riunite.

u) Taxodium disticum Rich.

Si immergono i semi in acqua per 18-20 ore. Mediante un piccolo bisturi si asporta un quarto del seme nella parte terminale più larga. I semi così preparati vengono messi nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Con un bisturi si taglia il tegumento longitudinalmente e si rimuove l'endosperma con l'embrione. Si apre l'endosperma e si scopre l'embrione.
Vanno considerati vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.

v) Tàxus spp.

I semi vanno tenuti in acqua per 18-20 ore. Si rimuove un quarto del seme dalla parte basale per mezzo di piccole e forti cesoie. Quindi si immergono i semi così preparati nella soluzione di tetrazolo per 48 ore. Con una lancetta si estrae l'endosperma, racchiudente l'embrione, dai tegumenti seminali. Si apre poi l'endosperma, e si scopre l'embrione, oppure si taglia longitudinalmente il seme a metà.
Sono da considerare vitali i semi con embrione ed endosperma completamente colorati.
Se l'endosperma mostra una manifesta insufficienza di colorazione, il trattamento va ripetuto con le seguenti modalità: dopo essere stati preliminarmente tagliati, i semi vanno tenuti sotto vuoto per 4 ore a 45°C in una soluzione di tetrazolo dove poi rimarranno ancora durante la notte a 30°C.

w) Tilia spp.

Si rimuove il pericarpo dai frutti secchi e si tengono i semi in acqua per 18-20 ore. Si liberano i semi dal rivestimento che li avvolge coll'aiuto di una lancetta da dissezione e si pongono, così preparati, nella soluzione di tetrazolo per 24 ore. Si apre quindi l'endosperma per mettere a nudo l'embrione.
Vanno considerati vitali i semi che presentano:

1) embrione ed endosperma completamente colorati;

2) embrione completamente colorato, ma endosperma con qualche piccola macchia superficiale sulla parte esterna.

6.3. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEL RISULTATO.

6.3.1. Calcolo del risultato.

Per il calcolo del risultato finale e la verifica dell'attendibilità della prova si procede nel modo indicato per la determinazione della germinabilità (sez. 5.6.), adottando le differenze massime ammesse nella tabella 4.

Se la prova è risultata statisticamente attendibile il risultato finale è dato dalla media delle percentuali di semi considerati vitali ottenute nelle quattro ripetizioni.

6.3.2. Espressione del risultato.

Nel certificato di analisi il risultato di questa determinazione viene indicato in percento senza decimali.

7º - DETERMINAZIONE DELL'UMIDITA'

7.1. Scopo

Scopo della determinazione dell'umidità è quello di accertare il contenuto in acqua dei semi. Essa si esegue impiegando i seguenti metodi appropriati onde evitare, nel corso della determinazione, processi ossidativi, decomposizioni o perdite di sostanze volatili che possono alterare il risultato di analisi.

Essa va effettuata quanto prima possibile dopo il ricevimento del campione che deve essere conforme a quanto indicato nella sezione 1.3.3.

Si utilizza il metodo di essiccamento in stufa per le specie indicate nelle tabelle 6 e 7.

Il grado di umidità è determinato dalla perdita di peso del campione, espressa come percentuale in peso.

7.2. Attrezzature

Per la determinazione dell'umidità dei semi sono richieste le seguenti attrezzature di laboratorio:

a) bilancia analitica sensibile al milligrammo;

b) pesafiltri cilindrici di forma bassa di diametro non inferiore a 55 mm;

c) stufa a riscaldamento elettrico e a circolazione d'aria, provvista di regolatore termostatico che consente di raggiungere rapidamente, entro 1 ora, la temperatura di 130°C e di mantenerla a ± 2°C;

d) essiccatore di vetro contenente gel di silice colorato con cloruro di cobalto;

e) macinino per la triturazione dei semi, costruito con materiali che non assorbano o cedano umidità. Deve operare la triturazione dei semi in ambiente chiuso senza riscaldare il materiale durante la macinazione; deve consentire una facile pulizia delle diverse parti meccaniche che lo compongono e infine deve essere graduabile in modo da permettere sia una macinazione fine che una grossolana (sez. 7.3.2.).

7.3 Campioni di analisi

L'analisi deve essere fatta su due ripetizioni, separatamente prelevate dal campione ricevuto, ciascuna del peso di 4-5 g per il metodo in stufa.

Prima di prelevare i campioni di analisi, il campione ricevuto deve essere rimescolato accuratamente con uno dei seguenti metodi:

a) agitare con un cucchiaio il campione nel suo contenitore;

b) collocare l'apertura del contenitore originale contro l'apertura di un altro contenitore similare e versare il seme più volte avanti e indietro fra i due contenitori.

Il prelievo dei campioni di analisi deve essere fatto il più rapidamente possibile, in modo che i campioni stessi non rimangano esposti all'aria per più di 30 secondi.

7.4. Triturazione dei semi

I semi grossi, prima della determinazione in stufa, devono essere triturati a meno che il loro elevato contenuto in olio renda difficile la triturazione (es. semi di lino) o provochi un aumento di peso per effetto dell'ossidazione.

Le specie per le quali è obbligatoria la triturazione sono elencate nella tabella 5.

La triturazione prescritta può essere:

a) fine: almeno il 50% del materiale triturato deve passare attraverso un vaglio con maglie di 0,5 mm e non più del 10% deve rimanere sopra un vaglio con maglie di 1,0 mm; questo tipo di triturazione è prescritta per i semi di cereali e di cotone;

b) grossolana: almeno il 50% del materiale triturato deve passare attraverso un vaglio con maglie di 4,0 mm; questo tipo di triturazione è prescritto per i semi grossi di leguminose quali ad es. Lupinus spp., Phaseolus spp., Pisum spp. e Vicia spp. e di specie legnose.

La triturazione va in ogni caso effettuata separatamente sui due campioni di lavoro, ciascuno di circa 10 g di seme.

TABELLA 5

SPECIE PER LE QUALI E' OBBLIGATORIA LA TRITURAZIONE

Arachys hypogaea	Oryza sativa
Avena spp.	Phaseolus spp.
Cicer arietinum	Pisum sativum
Citrullus lanatus	Quercus spp.
Fagopyrum esculentum	Ricinus communis
Fagus spp.	Secale cereale
Glycine max	Sorghum spp.
Gossypium spp.	Triticosecale
Hordeum vulgare	Triticum spp.
Lathyrus spp.	Vicia spp.
Lupinus spp.	Zea mays

7.5. Preessiccazione

Se la specie in esame richiede di essere macinata ed il suo contenuto in umidità è tale (superiore al 17%, 10% per la soia) da non consentire una buona triturazione occorre la preessiccazione. I due sottocampioni, ciascuno di peso sufficiente in modo d'avere, dopo preessiccazione, il quantitativo di seme prescritto nella sezione 7.3., sono pesati e posti in contenitori di peso noto in stufa a 105°C per 30-60 minuti.

Si tiene quindi conto della perdita di peso avvenuta in ciascuno dei due sottocampioni e si procede poi alla triturazione col metodo indicato alla sezione 7.4.

7.6. Esecuzione delle analisi

La determinazione in stufa è fatta secondo due metodi:

a) bassa temperatura costante:

105°C ± 2°C per 17 ore a ± 1 ora per le specie elencate nella tabella 6;

b) alta temperatura costante:

130-133°C per 4 ore per Zea mays, 2 ore per gli altri cereali ed 1 ora per le altre specie indicate nella tabella 7.

Per le specie non elencate nelle tabelle 6 e 7 si procede con il metodo indicato per le specie affini, o, nei casi dubbi, con il metodo a bassa temperatura costante.

Per entrambi i metodi si procede come segue: 5 g circa di seme appena prelevato o di materiale appena triturato vengono messi nel pesafiltro, previamente tarato col suo coperchio (peso a), in modo da formare uno strato di spessore uniforme che ricopra tutto il fondo del pesafiltro stesso.

Il pesafiltro viene quindi chiuso col coperchio e pesato nuovamente (peso b).

Si porta la stufa alla temperatura voluta e vi si introduce il pesafiltro ponendo accanto ad esso il relativo coperchio.

Si chiude subito la stufa e si attende che la temperatura, scesa durante la introduzione del pesafiltro, raggiunga nuovamente il grado desiderato.

Da questo momento si calcola il tempo di riscaldamento indicato in a) e b).

Al termine il pesafiltro viene immediatamente chiuso col proprio coperchio e messo nell'essiccatore per 40 minuti circa, dopo di che viene nuovamente pesato (peso c).

TABELLA 6

SPECIE PER LE QUALI DEVE ESSERE USATA LA TEMPERATURA COSTANTE DI + 105°C

Allium spp.	Helianthus annuus
Arachis Hypogaea	Linus usitatissimum
Brassica spp.	Raphanus sativus
Camelina sativa	Ricinus communis
Capsicum spp.	Sesamum indicum (S. orientale)
Glycine max	Sinapis spp.
Gossypium spp.	Solanum melongena

TABELLA 7

SPECIE PER LE QUALI DEVE ESSERE USATA LA TEMPERATURA COSTANTE DI + 130°C

Agrostis spp.	Lepidium sativum
Alopecurus pratensis	Lolium spp.
Anethum graveolens	Lotus spp.
Anthoxanthum odoratum	Lupinus spp.
Anthriscus spp.	Lycopersicon lycopersicum(L.esculentum)
Apium graveolens	Medicago spp.
Arrhenatherum spp.	Melitotus spp.
Asparagus officinalis	Nicotiana tabacum
Avena spp.	Onobrychis viciaefolia
Beta vulgaris	Ornithopus sativus
Bromus spp.	Oryza sativa
Cannabis sativa	Panicum spp.
Carum carvi	Papaver somniferum
Chloris gayana	Paspalum dilatatum
Cicer arietinum	Pastinaca sativa
Cichorium spp.	Petroselinum crispum
Citrullus lanatus	Phalaris spp.
Cucumis spp.	Phaseolus spp.
Cucurbita spp.	Phleum spp.
Cuminum cyminum	Pisum sativum
Cynodon dactylon	Poa spp.
Cynosurus cristatus	Scorzonera hispanica
Dactylis glomerata	Secale cereale
Daucus carota	Sorghum spp.
Deschampsia spp.	Spinacia spp.
Fagopyrum esculentum	Trifolium spp.
Festuca spp.	Trisetum flavescens
Holcus lanatus	Triticum spp.
Hordeum vulgare	Valerianella locusta
Lactuca sativa	Vicia spp.
Lathyrus spp.	Zea mays

7.7. Calcolo ed espressione del risultato

7.7.1. <u>Calcolo del contenuto in umidità</u>

Il contenuto in umidità deve essere calcolato come percentuale in peso con una cifra decimale secondo la formula seguente:

$$\text{Umidità } \% = \frac{b - c}{b - a} \times 100$$

dove:

a = peso del pesafiltro vuoto e del suo coperchio;
b = peso del pesafiltro col seme e del suo coperchio prima dell'essiccamento;
c = peso del pesafiltro col seme e del suo coperchio dopo l'essiccamento.

Se il materiale è stato sottoposto anche a preessiccamento il risultato finale sarà calcolato secondo la seguente formula:

$$\text{Umidità } \% = S_1 + S_2 - \frac{S_1 \times S_2}{100}$$

dove:
S_1 = umidità persa nella prima fase (preessiccamento);
S_2 = umidità persa nella seconda fase.

7.7.2. <u>Tolleranze</u>

La determinazione deve essere sempre fatta su due ripetizioni ed essa si deve ritenere esatta se la differenza fra le due ripetizioni non supera lo 0,2%.

Diversamente si deve ripetere la determinazione sempre su due ripetizioni.

7.7.3. <u>Espressione del risultato</u>

Nel certificato di analisi si riporta la media delle due percentuali, espressa con una sola cifra decimale per arrotondamento.

8º - DETERMINAZIONE DEL PESO DI 1.000 SEMI

Scopo di questa determinazione è quello di accertare il peso di 1.000 semi del campione.

8.1. Procedura

Da ciascuna delle due frazioni di seme puro del campione di analisi per la determinazione della purezza, si contano 4 ripetizioni di 100 semi ognuna.

Ogni ripetizione viene pesata in grammi con lo stesso numero di decimali di un'analisi di purezza (sez. 3.2.d).

Si calcola quindi la varianza, la deviazione standard ed il coefficiente di variazione come segue:

$$\text{varianza} = \frac{n\,(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2}{n\,(n-1)}$$

dove:

x = peso di ogni ripetizione in grammi;
n = numero di ripetizioni;
Σ = sommatoria di

$$\text{Deviazione standard (S)} = \sqrt{\text{varianza}}$$

$$\text{Coefficiente di variazione} = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$

dove:

$\bar{x}$ = peso medio di 100 semi.

Il coefficiente di variazione non deve eccedere 6,0 per i semi vestiti di graminacee, 4,0 per gli altri semi.

In caso contrario occorre eseguire altre otto ripetizioni e calcolare la deviazione standard delle 16 ripetizioni; si scartano poi tutte le ripetizioni che si discostano dalla media per più di due volte la deviazione standard calcolata.

8.2. Calcolo ed espressione del risultato

Si calcola il peso medio di tutte le ripetizioni valide secondo i calcoli di cui alla sezione 8.1. e si moltiplica per 10 ottenendo così il peso di 1.000 semi.

Il risultato deve essere espresso in grammi con un numero di cifre decimali come per l'analisi di purezza (sez. 3.2.d.).

9º - DETERMINAZIONE DEL PESO PER ETTOLITRO

Questa determinazione viene effettuata in doppio con una bilancia di Tipo Schopper. La differenza tra i due pesi per ettolitro ottenuti non deve essere superiore a 500 g, altrimenti occorre ripetere la prova in doppio.

Il risultato è dato dalla media dei due pesi e viene espresso nel certificato di analisi in kg con una sola cifra decimale.

10ª - DETERMINAZIONE IN NUMERO DELLE CARIOSSIDI ROSSE NEL RISO

Questa determinazione viene effettuata su un campione di 500 g di seme, che viene sottoposto ad una operazione di sbramatura per liberare le cariossidi dalle glumelle.

Dalle cariossidi così svestite vengono separate e contate quelle che presentano il pericarpo totalmente o parzialmente rosso.

Qualora si renda necessario ripetere l'analisi occorre verificarne la validità operando nel modo indicato per la ricerca del numero di semi estranei (sez. 4.4.). Il risultato di questa ricerca viene espresso nello stesso modo indicato per la determinazione del numero di semi estranei (sez. 4.4.).

11ª - ANALISI DEI SEMI RICOPERTI

Le norme qui di seguito riportate si applicano a sementi ricoperte con materiali che rendono impossibile l'identificazione di ciascun seme o di materie inerti ivi contenute senza una preventiva rimozione del materiale stesso. I semi possono essere rivestiti con materiali diversi, sia singolarmente (es. confetti) sia in nastri, in tappeti, ecc. Invece i semi soltanto trattati o conciati non rientrano tra i semi rivestiti e devono pertanto essere analizzati secondo i metodi prescritti negli altri capitoli.

Quando nel presente capitolo si fa riferimento a seme "confettato" ciò è valido anche per il seme "incrostato" o per il seme "in granuli".

Se si fa riferimento a seme "in nastri" esso è valido anche per seme "in tovaglie o tappeti". In assenza di specifiche indicazioni, ci si deve attenere alle prescrizioni dei capitoli precedenti.

11.1. Definizioni

Seme confettato. Confetti più o meno sferici idonei per semine di precisione, comprendenti di norma un singolo seme di forma e dimensione non evidenti. Il confetto, assieme al materiale confettante, può contenere fitofarmaci, coloranti od altri additivi.

Seme incrostato. Semi ricoperti di materiale incrostante ma che mantengono in modo più o meno evidente la forma del seme, seppure con peso e dimensioni più o meno aumentati. Il materiale incrostante può contenere fitofarmaci, coloranti od altri additivi.

Seme in granuli. Granuli di forma più o meno cilindrica, compreso granuli con più di un seme uniti insieme. Il materiale granulante può contenere fitofarmaci, coloranti od altri additivi.

Seme in nastri. Strisce strette o nastri di materiale degradabile, come la carta o altro, con semi variamente spaziati in gruppi o in unica fila.

Seme in tappeti. Strisce larghe tovaglie o tappeti di materiale degradabile come carta o altro, con semi disposti a file, a gruppi o a spaglio.

Seme trattato. Semi conciati ai quali cioè sono stati applicati fitofarmaci, coloranti od altri additivi soltanto e che, pertanto, non hanno modificato sostanzialmente forma, dimensione o peso del seme originale, per cui possono essere analizzati secondo i metodi prescritti negli altri capitoli.

11.2. Campionamento

11.2.1. Dimensioni del lotto

Il peso del lotto non deve superare la quantità indicata nella colonna 2 delle tabelle dell'Allegato I con una tolleranza del 5% e può contenere un numero massimo di 1.000 milioni (es. 10.000 unità di 100.000 semi ciascuna) di semi confettati o di semi in nastri. Comunque il peso del lotto al lordo del materiale ricoprente il seme non deve superare i 42.000 kg (più 5%). Quando la dimensione del lotto è espressa sul certificato in unità di semi, va riportato anche il peso totale del lotto.

11.2.2. Frequenza di campionamento e precauzioni

Il campionamento di lotti di seme confettato va eseguito secondo le norme prescritte nella sezione 1.2.2. Il campionamento di lotti di seme in nastri va eseguito prelevando a caso pacchetti o pezzi di nastro (dai rotoli) analogamente a quanto prescritto nella sezione 1.2.4., purché i pacchetti o i rotoli, contenenti fino a 2 milioni di semi (es. 20 unità da 100.000 semi), possano essere raggruppati a formare l'unità di campionamento voluta.

Poiché i campioni di seme confettato contengono meno semi dei corrispondenti campioni di seme non confettato, occorre prestare particolare cura nel prelievo al fine di avere un campione rappresentativo del lotto e di evitare danni o modificazione ai confetti o ai semi in nastri durante il prelievo, la manipolazione e il trasporto. I campioni vanno posti entro contenitori idonei a proteggerli.

11.2.3. Campione medio finale di prelevamento

Il campione medio finale di prelevamento deve contenere un numero di confetti o di semi in nastri

non inferiore a quello indicato nella colonna 2 della tabella 8. Se il campione è di dimensioni più piccole ci si comporta in modo analogo a quanto previsto nella sezione 1.3.3. b e e, indicando sul certificato il numero di confetti o di semi in nastri in esso contenuti.

11.2.4. Campione d'analisi

Il campione d'analisi deve contenere un numero di confetti o di semi in nastri non inferiore a quello indicato nella colonna 3 della tabella 8. Se viene usato un campione più piccolo si deve indicare sul certificato il numero effettivo di confetti o di semi impiegato. Per i semi confettati il campione d'analisi può essere prelevato con un divisore meccanico (sez. 1.4.1.a.), purché l'altezza di caduta non superi 0,25 m. Per i semi in nastri si prendono a caso pezzi di nastro in quantità sufficiente a fornire i semi necessari per l'analisi.

Tabella 8

Dimensioni dei campioni di semi ricoperti

	Determinazioni (1)	Campione medio di prelevamento non inferiore a (2)	Campione di analisi non inferiore a (3)
I.	Semi confettati	n. di confetti	n. di confetti
	Analisi della purezza compresa la verifica della specie	7.500	2.500
	Determinazione del peso	7.500	la frazione dei confetti puri
	Analisi della germinabilità	7.500	400
	Ricerca di altre specie	10.000	7.500
	Ricerca di altre specie (in semi incrostati o in granuli)	25.000	25.000
	Calibratura	10.000	2.000
II.	Semi in nastri	numero di semi	numero di semi
	Analisi della purezza	2.500	2.500
	Verifica della specie	2.500	100
	Analisi della germinabilità	2.500	400
	Ricerca di altre specie	10.000	7.500

11.3. Verifica e determinazione della specie

Al fine di controllare se i semi confettati sono della specie indicata, occorre rimuovere, mediante lavaggio o allo stato secco, il materiale confettante da 100 confetti puri e determinare il nome e il numero di semi di ogni specie trovata. Per i semi in nastri occorre rimuovere ed esaminare 100 semi, separandoli dal materiale avvolgente o dissolvendolo, e indicare poi il nome ed il numero dei semi di ogni specie.

11.4. Analisi della purezza

L'analisi della purezza in senso stretto (cioè del seme all'interno dei confetti o dei nastri) non è necessaria a meno che non sia espressamente richiesta. In questo caso occorre deconfettare i semi o rimuoverli dai nastri secondo le procedure riportate alla sezione 11.4.3. e procedere secondo quanto indicato al capitolo 3.

Per l'analisi del seme confettato si osservano le definizioni qui di seguito date (sez. 11.4.1.). Per il seme in nastri non esistono definizioni particolari diverse da quelle del capitolo 3.

11.4.1. Definizioni per il seme confettato

Le componenti in cui deve essere suddiviso il campione d'analisi sono così definite:

a) Confetti puri:
- confetti interi sia che contengano o no un seme;
- confetti rotti o danneggiati nei quali più della metà della superficie del seme sia coperta dal materiale confettante, a meno che non sia evidente che il seme non appartiene alla specie indicata o che esso non sia presente.

b) Semi non confettati:
- semi non confettati di qualsiasi specie;
- confetti rotti contenenti semi che non appartengono alla specie indicata;
- confetti rotti contenenti semi della specie indicata ma non includibili nella frazione dei confetti puri.

c) Materie inerti:
- materiale confettante libero;
- confetti rotti senza seme;
- ogni altro materiale definito come materia inerte nella sezione 3.3.3.

11.4.2. <u>Esecuzione dell'analisi ed espressione del risultato</u>

L'analisi viene effettuata su due sottocampioni di peso non inferiore alla metà di quello indicato nella colonna 3 della tabella 8. Per il seme confettato, ciascun sottocampione viene separato nei tre componenti come indicato nella sezione 11.4.1. Dopo la separazione ogni componente deve essere pesato in grammi con un numero di decimali necessario per calcolare la percentuale con una cifra decimale (sez. 3.2.d.). Il calcolo delle percentuali delle singole componenti, la verifica dell'attendibilità, nonché l'espressione del risultato finale viene eseguito secondo quanto indicato nelle sezioni 3.7.1. e 3.7.2.

11.4.3. <u>Analisi della purezza di semi deconfettati e di semi rimossi dai nastri</u>

Se occorre procedere ad una analisi di purezza del seme deconfettato, il campione di analisi di non meno di 2.500 confetti, deve essere deconfettato agitandolo entro un setaccio immerso in acqua e a maglie fini tali da impedire perdite di seme e lasciare disperdere il materiale confettante nell'acqua.

Il materiale trattenuto dal setaccio viene essiccato per 16-20 ore su carta da filtro poi in una stufa a circolazione di aria come indicato nella sezione 7.5 per la specie in oggetto. Dopo l'essiccamento il materiale deve essere sottoposto all'analisi di purezza, in conformità al capitolo 3. Le percentuali delle parti componenti (seme puro, altri semi, materie inerti) vengono calcolate rispetto al totale dei loro pesi, ignorando il materiale confettante. La percentuale del materiale confettante deve essere riportata separatamente e viene desunta per differenza dal peso iniziale del campione di analisi.

Se occorre procedere ad un'analisi della purezza di semi rimossi dai nastri, il materiale ricoprente i nastri di carta contenenti i semi viene cautamente separato ed allontanato. Il nastro di materiale solubile in acqua viene bagnato fino a liberare il seme. Se vi è seme confettato si procede come al precedente comma. Il seme liberato viene essiccato e sottoposto all'analisi della purezza, come sopra indicato.

Le percentuali dei singoli componenti vengono calcolate, sempre come sopra, ignorando il peso del materiale avvolgente il seme.

Il risultato di queste analisi va riportato nel certificato nello spazio riservato a "altre determinazioni" annotando il peso del materiale ricoprente eliminato.

11.5. Determinazione del numero di semi di altre specie

Questa determinazione viene fatta solo se richiesta. Il campione d'analisi non deve essere inferiore a quello indicato nella colonna 3 della tabella 8. Il materiale ricoprente il seme deve essere rimosso dall'intero campione d'analisi nel modo indicato nella sez. 11.4.3., ma l'essiccamento del seme non è obbligatorio.

Dal campione di seme così ottenuto vengono separati e contati i semi di tutte le specie rinvenute estranee o soltanto di quelle richieste.

Il peso effettivo del campione esaminato ed il numero approssimativo di confetti in esso contenuto ovvero la lunghezza del nastro o l'area del tappeto esaminata, il nome latino e il numero di semi di ciascuna specie ricercata in questo peso, lunghezza o area, devono essere riportati nel certificato di analisi. In aggiunta, il risultato può essere riportato in altro modo (ad es. numero di semi per chilogrammo, per metro o per metro quadrato).

Qualora si renda necessario ripetere l'analisi occorre verificarne la validità con il calcolo della tolleranza prevista nella tabella 2 e procedere come indicato nella sezione 4.4. I due campioni a confronto devono essere approssimativamente dello stesso peso, lunghezza o area.

11.6. Analisi di germinabilità

L'analisi di germinabilità per il seme confettato deve essere fatta sui confetti puri dell'analisi della purezza. I confetti devono essere posti sul substrato nelle condizioni in cui sono pervenuti, cioè senza alcun pretrattamento. L'analisi del seme in nastri deve essere fatta sui nastri senza rimuoverne i semi e senza trattare in alcun modo il materiale che li ricopre.

Se richiesta o come controllo dell'analisi dei confetti o dei nastri, si può fare in aggiunta l'analisi su semi rimossi dai confetti o dai nastri. In questo caso è necessario che la rimozione del materiale ricoprente avvenga in modo da non danneggiare la capacità germinativa del seme (ad es. come indicato nella sezione 11.4.3. ma senza essiccamento del seme rimosso).

11.6.1. <u>Campione di analisi</u>

Per il seme confettato si usano 400 confetti puri in quattro repliche da 100 confetti ciascuna. Per il seme in nastri si usano pezzi di nastro presi a caso e in quantità tale da formare quattro repliche di almeno 100 semi ciascuna.

11.6.2. <u>Materiali e procedure d'analisi</u>

Per l'analisi dei semi ricoperti si usano gli stessi metodi, substrati, temperature, condizioni

di illuminazione e trattamenti speciali descritti nel capitolo 5 e prescritti per ciascuna specie nelle tabelle dell'Allegato II.

Poiché il substrato più appropriato è risultato, in genere, essere la carta da filtro pieghettata (CP) per il seme confettato e tra due carte da filtro (TC) per il seme in nastri, ne viene raccomandato l'uso e, particolarmente, quando i substrati prescritti nelle tabelle dell'Allegato II risultano non dare risultati soddisfacenti.

La quantità di acqua può variare a seconda del materiale ricoprente e della specie di seme, in modo da raggiungere le condizioni ottimali per la germinazione. Se il materiale confettante aderisce ai cotiledoni al momento del conteggio, si deve spruzzare cautamente dell'acqua per allontanarlo.

A causa del materiale ricoprente può essere necessaria una durata del periodo d'analisi superiore a quella prescritta nelle colonne 6 e 7 delle tabelle dell'Allegato II. In tal caso di procede come indicato alla sezione 5.5.3.

11.6.3. Valutazione dei germinelli

La distinzione dei germinelli in normali ed anormali deve essere fatta secondo le indicazioni della sezione 5.5.4. Le anomalie possono essere dovute anche al materiale confettante. Qualora ci fosse questo sospetto e la prova fosse stata fatta in carta, si deve fare un'altra prova in sabbia.

Strutture a semi multipli possono essere inglobate nei confetti o nei nastri, o più di un seme in un confetto. In ogni caso queste vanno considerate come un solo seme e come germinate se producono almeno un germinello normale della specie indicata. I confetti o i semi in nastri che producono due o più di tali germinelli devono essere annotati. Se è richiesto, il grado di germia dei confetti che hanno prodotto uno, due o più germinelli normali, viene espresso come percentuale del numero totale dei confetti che hanno dato almeno un germinello normale.

I confetti o i semi in nastro che hanno prodotto germinelli chiaramente non appartenenti alla specie indicata non devono essere considerati germinati. Il loro numero però deve essere riportato sul certificato.

11.6.4. Calcolo ed espressione del risultato

Il risultato dell'analisi è espresso come media delle percentuali in numero di confetti o di semi

in nastri con germinelli normali, germinelli anormali o senza germinelli delle quattro repliche, previa verifica dell'attendibilità della prova secondo le indicazioni della sezione 5.6.1., e viene riportato sul certificato unitamente all'indicazione del metodo usato e della durata dell'analisi. In aggiunta, per il seme in nastri, si deve calcolare e riportare sul certificato il numero di germinelli normali per metro di nastro o per metro quadrato di tappeto o tovaglia.

Il risultato di una analisi di germinazione dei semi rimossi dai confetti o dai nastri va riportato sotto "altre determinazioni".

11.7. Determinazione del peso e del calibro dei confetti

A causa delle esigenze tecniche della semina di precisione, può essere necessaria la determinazione del peso e del calibro dei confetti.

La determinazione del peso deve essere fatta con confetti presi dalla frazione del seme puro dell'analisi di purezza (sez. 11.4.1.a) e fatta secondo le prescrizioni del capitolo 9.

La calibratura deve essere fatta secondo le prescrizioni del capitolo 12, fatta eccezione per il campione di analisi che non deve contenere un numero di confetti inferiore a quello indicato nella colonna 3 della tabella 8 e che deve essere pesato prima della vagliatura. I risultati sono espressi come percentuale del peso totale dei confetti del campione di analisi.

11.8. Prescrizioni particolari per il certificato di analisi

Sul certificato di analisi per semi rivestiti deve essere chiaramente riportata, possibilmente a fianco della voce "Risultati d'analisi" la dicitura SEME CONFETTATO, SEME INCROSTATO, SEME IN GRANULI, SEME IN NASTRI, SEME IN TAPPETI o SEME IN TOVAGLIE.

12º - CALIBRATURA DEI SEMI

Le seguenti norme sono applicabili esclusivamente ai semi di Beta spp. ed ai semi confettati.

Il controllo del calibro è fatto su un campione di almeno 250 g che deve essere inviato al laboratorio in un contenitore di materiale impermeabile.

L'analisi deve essere fatta su due campioni di analisi di circa 50 g ciascuno, comunque non meno di 45 g e non più di 55 g.

I due campioni di analisi vengono sottoposti separatamente ad una vagliatura.

Devono essere usati i seguenti vagli a fori rotondi:

- uno con fori di 0,25 mm di diametro inferiore al valore nominale più basso delle dimensioni del seme;
- una serie di setacci con intervallo di calibro di 0,25 mm;
- un setaccio con fori di 0,25 mm di diametro superiore al valore nominale maggiore delle dimensioni del seme.

L'ampiezza di oscillazione dei vagli deve essere compresa fra 45 e 50 mm.

La durata della vagliatura deve essere di un minuto per i semi confettati e di 3 minuti per quelli non confettati.

Le frazioni ottenute dalla vagliatura, compresa quella che passa attraverso il setaccio inferiore, sono pesate ed il peso è indicato con due cifre decimali.

I pesi delle frazioni sono espressi come percentuali, ad una cifra decimale, del peso totale. La media dei valori ottenuti dai due campioni di analisi rappresenta il risultato finale purchè la differenza tra le percentuali rispetto alla media, non superi l'1,5%.

Se tale limite è superato deve essere analizzato un altro campione di 50 g e, se necessario, anche un quarto.

In ogni caso si deve riportare sul certificato di analisi la media di due calibrature che rientrino nei limiti di tolleranza ammessi.

13º -DETERMINAZIONE DELLO STATO SANITARIO DELLE SEMENTI

13.1. Scopo

Scopo dell'analisi sanitaria delle sementi è la determinazione dello stato sanitario di un campione rappresentativo del lotto cui si riferisce, al fine di contribuire alla valutazione agronomica e commerciale del lotto stesso.

L'analisi sanitaria è importante per le seguenti ragioni:

1. l'inoculo portato dal seme può causare malattie in campo e ridurre il valore commerciale della coltura;
2. lotti di semente importati possono introdurre malattie in nuove aree. Possono pertanto essere necessarie analisi per ottemperare alle norme di quarantena;
3. l'analisi sanitaria della semente può fornire informazioni sull'andamento delle prime fasi di sviluppo delle plantule, integrando i risultati ottenuti nelle prove di germinazione.

13.2. Definizioni

13.2.1. Stato sanitario: lo stato sanitario del seme riguarda principalmente la presenza o assenza di organismi patogeni quali funghi, batteri, virus e di animali comunque dannosi (nematodi, insetti). In qualche caso può riguardare anche disturbi di carattere fisiologico del seme quali le carenze di microelementi.

13.2.2. Incubazione: è il mantenimento del seme in condizioni favorevoli allo sviluppo di patogeni o di sintomi.

13.2.3. Pretrattamento: viene così definito qualsiasi trattamento chimico o fisico del campione di analisi, applicato prima dell'incubazione allo scopo di semplificare o comunque migliorare le procedure analitiche.

13.2.4. Trattamento: è considerato trattamento ogni intervento fisico o chimico cui sia stato sottoposto il lotto di semente.

13.3. Principio

Nell'analisi sanitaria delle sementi viene determinata la presenza o assenza di patogeni o altri organismi nocivi, nonché di anomale condizioni fisiologiche. Il numero di semi del campione, interessati da ciascuno dei citati aspetti negativi, viene stimato con la precisione permessa dal metodo applicato.

Le determinazioni possono essere influenzate dai trattamenti subiti dal lotto. E' pertanto importante che sia indicato se il seme è stato trattato e con quali modalità, prodotti e relativa classe di tossicità.

13.4. Esecuzione delle analisi

13.4.1. Campione di analisi

Quando non sia diversamente richiesto, il campione di analisi deve essere costituito da almeno 400 semi puri presi dal campione medio di prelevamento (sez. 1.2.1.c.).

13.4.2. Indicazioni generali

Importante fonte di informazioni sulle malattie trasmissibili per seme è costituita dal Manuale sull'analisi sanitaria delle sementi dell'ISTA (ISTA Handbook on Seed Health Testing), con particolare riguardo alla Sez. 1.1.

Ulteriori utili riferimenti sono reperibili in: Richardson, M.J. (1990). An annotated list of seed borne diseases, ISTA.

E' raccomandabile, ai fini dell'uniformità nell'applicazione dei metodi e nel rilevamento dei risultati, che gli operatori i quali dovranno applicare un metodo, lo apprendano per pratica diretta accanto ad esperti dei vari settori.

Per l'esecuzione delle analisi si adottano metodi basati sull'esame dei semi senza incubazione o dopo incubazione e sull'esame delle plantule con tecniche particolari. La scelta del metodo dipende dal tipo di patogeno, dalle condizioni in cui si opera, dalla specie di seme in esame e dallo scopo dell'analisi.

a) Esame senza incubazione

Queste prove non danno alcuna indicazione sulla vitalità del patogeno:

1) Esame del seme secco

Viene esaminato il campione medio di prelevamento o un suo sottocampione, con o senza microscopio stereoscopico, per ricercare sclerozi del genere *Claviceps* o altri sclerozi, galle di nematodi, sori di carboni, insetti, acari, segni evidenti di malattie e di danni da insetti sui semi o su materiali inerti, come anche corpi fruttiferi di microrganismi, alterazioni di colore e qualsiasi altro danno.

2) Esame di semi imbibiti

Il campione di analisi viene immerso in acqua o in altro liquido per rendere più facilmente visibili corpi fruttiferi, sintomi di alterazioni o parassiti animali, oppure per facilitare la liberazione delle spore. Dopo l'imbibizione i semi vengono esaminati esternamente o internamente, preferibilmente al microscopio stereoscopico.

3) Esame di organismi rimossi mediante lavaggio

Il campione di analisi viene immerso in acqua con aggiunta di un bagnante, oppure in alcool, agitato energicamente per rimuovere spore fungine, ife, nematodi, ecc., presenti nella semente o aderenti al seme. Il liquido in eccesso viene quindi eliminato mediante filtrazione, centrifugazione o evaporazione e il materiale estratto viene esaminato al microscopio.

b) Esame dopo incubazione

Dopo un determinato periodo di incubazione campione di analisi viene esaminato per rilevare la presenza di microrganismi patogeni o sintomi di

malattia, parassiti animali e alterazioni di carattere fisiologico nei semi o nei germinelli. Comunemente vengono usati due tipi di substrati:

1) Substrati di carta umida (vedi sez. 13.4.3.) nei casi in cui si deve osservare lo sviluppo di microrganismi patogeni o quando si devono esaminare le plantule. I semi, con o senza pretrattamento, vengono disposti sulla carta e distanziati in modo da evitare la diffusione per contatto di saprofiti. Quando è necessario si applicano particolari condizioni di luce atte a stimolare la sporificazione dei funghi. In alcuni casi può essere utile inibire la germinazione con sostanze chimiche o con altri mezzi. Alcuni patogeni possono essere identificati senza ingrandimento, ma il più delle volte è necessario lo stereomicroscopio o il microscopio composto per l'identificazione delle spore fungine.

2) Substrati agarizzati, quando è necessario per l'identificazione dei microrganismi che si sviluppano dai semi. In questo caso si deve operare in condizioni di sterilità. I semi, di solito dopo pretrattamento, sono deposti sulla superficie dell'agar sterilizzato e incubati. E' possibile identificare le colonie che si sviluppano sull'agar dalle loro caratteristiche, con l'osservazione macroscopica o microscopica. Spesso può essere utile l'azione della luce durante l'incubazione; inoltre, possono essere usati inibitori della germinazione dei semi

c) Esame delle plantule

In alcuni casi l'osservazione di determinati sintomi sulle plantule è il metodo più pratico per determinare la presenza di batteri, funghi o virus nel campione di semi. Allo scopo, si può o seminare semi del campione in prova, oppure usare l'inoculo ottenuto dai semi del campione per effettuare prove di infezione artificiale su plantule sane o su parti di piante sane. In questo caso le piante devono essere protette da possibili infezioni provenienti dall'esterno e può essere necessario operare in condizioni accuratamente controllate.

d) Altre tecniche

Per alcuni particolari agenti patogeni (batteri, virus) vengono adottati appositi metodi specifici come reazioni sierologiche, od altro.

Per stimolare la sporificazione e favorire l'identificazione si raccomanda l'uso di luce alternata durante l'incubazione, con periodi di 12 ore di

buio e 12 ore di esposizione a luce NUV (luce ultravioletta ottenibile da lampade fluorescenti a "luce nera" con picco a 360 nm). Possono dare risultati soddisfacenti anche tubi fluorescenti a luce diurna.

13.4.3. Indicazioni specifiche

Nella presente Sezione vengono descritte le metodiche di analisi già standardizzate per la ricerca di alcuni patogeni per le specie di semi o gruppi di specie. Per altre metodiche, relative a specie o patogeni non riportati nel presente elenco, si rimanda ai metodi internazionali di analisi delle sementi.

I metodi messi a punto nelle indicazioni specifiche non sono, di norma, idonei per semi conciati; fanno eccezione i metodi per Ustilago nuda.

Quando non è diversamente stabilito, il pretrattamento con ipoclorito di sodio consiste nell'immersione dei semi per 10 minuti in una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% di cloro attivo, e successiva decantazione del liquido.

Qualora non sia diversamente previsto, il substrato da impiegare per il metodo su carta dovrà essere costituito da uno o più dischi di carta da filtro o di carta bibula esente da sostanze tossiche e da microrganismi contaminanti per i patogeni oggetto di ricerca. Le caratteristiche del substrato dovranno essere tali da garantire un apporto di almeno 3,4 g di acqua per capsula Petri di 9 cm di diametro dopo imbibizione per immersione e successivo sgocciolamento per gravità. Per tutta la durata della prova, la carta dovrà apparire umida, ma esente da velo liquido apprezzabile ad occhio nudo sulla sua superficie. Per mantenere tali condizioni potrà rendersi necessaria l'aggiunta periodica di acqua.
Per il metodo su carta umida e substrati agarizzati si usa acqua distillata o deionizzata.

Quando viene indicato il numero di semi da porre in una capsula Petri, ci si riferisce ad una capsula di 9 cm di diametro.

Qualora i semi debbano essere esaminati più di una volta, si dovrà indicare, nei risultati, soltanto la percentuale di infezione totale.

13.4.3.1 Compositae

A) **Botrytis cinerea** Pers. ex Pers. su **Helianthus annuus**.

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta da filtro Whatman n. 1.

Metodo: preparare 80 capsule Petri e porre in ciascuna di esse due dischi di carta da filtro, aggiungere 5 ml di una soluzione al 3% di estratto di malto. Togliere il liquido in eccesso e porre 5 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 9 giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo 5, 7 e 9 giorni esaminare i semi ad occhio nudo per osservare le radichette che presentano marciume molle e sono coperte da micelio grigio, abbondante. Nei casi dubbi può essere utile esaminare il micelio a un ingrandimento di 200 x per osservare le ife settate, nastriformi e i conidiofori ramificati.

B) Virus del mosaico della lattuga su Lactuca sativa:

a) Esame delle plantule

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: terreno torboso con aggiunta di una adeguata quantità di elementi nutritivi per ottenere uno sviluppo soddisfacente delle plantule.

Metodo: i semi vengono seminati ad una distanza di almeno 2,5 cm uno dall'altro e ricoperti con uno strato di terra di circa 1 mm.

Incubazione: 5 giorni a 5-10°C al buio, e successivamente per 13-19 giorni a 20°C a luce continua. Il numero di giorni necessario per ottenere lo sviluppo di almeno 3 foglie varia a seconda della varietà. Come sorgente di luce si usano lampade fluorescenti, alternate nello spazio, rispettivamente con emissione di luce rossa (699-700 nm) e luce blu (400-510 nm). Sono sufficienti 8 tubi tipo Sylvania "Gro Lux" da 40 watt per ogni 0,6 m^2: 120 x 50 cm), da collocarsi ad una distanza di circa 30 cm dalla superficie del substrato.

Esame: contare le piantine che presentano a vista sintomi di mosaico sulle prime 3 foglie vere. L'osservazione dei sintomi può essere facilitata esaminando le piantine per trasparenza, tenendole sollevate verso una sorgente di luce diffusa.

b) Metodo su: Chenopodium quinca

Crescita delle piante: si seminano in terreno i semi di C. quinoa. Successivamente si trapian-

tano le singole piante, allo stadio di sviluppo dei cotiledoni o di 2 foglie, in vasi di 10 cm di diametro contenenti terra. Le piante così preparate sono tenute a temperatura da 18°C a 20°C, con esposizione a luce artificiale (cicli di 16 ore di luce e 8 ore di buio).

Se non è possibile ottenere queste condizioni le piante, dopo la crescita a luce continua, dovrebbero essere poste al buio per 24 ore prima delle inoculazioni. Le piante sono pronte quando si sono sviluppate da 4 a 6 foglie. Non si devono usare piante con fiori.

Preparazione dell'inoculo: prelevare 10 campioni di semi di lattuga, ciascuno costituito da 700 semi; frantumare i semi di ogni campione in 5 ml di una soluzione tampone a pH 7 di ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$) 0.03 M, con aggiunta di una soluzione allo 0,2% di dietil-ditiocarbammato di sodio ($C_5H_{10}NNaS_2 \cdot 3\ H_2O$) e una soluzione allo 0,5% di $NaHSO_3$. Aggiungere 375 mg di carbone attivato e usare l'impasto, come inoculo, entro 10 minuti dalla preparazione.

Inoculazione: l'inoculo preparato da ciascun campione di semi di lattuga viene usato per inoculare le foglie di C. quinoa dopo aver lievemente cosparso la superficie fogliare con carborundum. Per ogni campione inoculare 3 foglie giovani di 3 piante. Dopo l'inoculazione le foglie vengono risciacquate leggermente con acqua di rubinetto. Le piante devono quindi essere coperte con buste di plastica per 24 ore per mantenere le foglie inoculate in condizioni di elevata umidità.

Incubazione: le piante inoculate devono essere poste in serra o preferibilmente in una camera di crescita a 25°C con esposizione a luce artificiale (cicli di 16 ore di luce e 8 ore di buio), oppure a luce continua, per un periodo da 5 a 14 giorni.

Esame: le piante vengono esaminate dopo un periodo che va da 6 a 20 giorni per rilevare i sintomi che possono comparire sulle foglie inoculate, come macchie clorotiche localizzate e, sulle foglie apicali come macchie sistemiche di mosaico. I sintomi sono di facile rilevamento a vista.

13.4.3 2 Coniferae

Fusarium moniliforme var. subglutinans Wollenw. et Reink. su Pinus taeda e P. elliottii

Campione di lavoro: 400 semi

Substrato: carta bibula blu in scatole di plastica (133x133x32 mm) con coperchio trasparente.

Metodo: mettere i semi sulla carta disposta nei contenitori, adagiando in ciascuno di questi 25 semi egualmente distanziati tra loro. Schiacciare i semi con una lastrina di plastica sterilizzata, di dimensioni adeguate ad essere contenuta nell'interno delle scatole. Irrorare quindi semi e carta con una soluzione così preparata:
15 g di peptone, 5 g di Mg $SO_4 \cdot 7\ H_2O$, 1 g KH_2PO_4, 1 g di polvere bagnabile al 75% di PCNB (pentacloronitrobenzene), sono disciolti accuratamente in un litro di acqua distillata. La soluzione viene quindi sterilizzata in autoclave (120°C, 15 min), e lasciata raffreddare a temperatura ambiente. Vengono quindi aggiunti 1 g di solfato di streptomicina e 0,12 g di solfato di neomicina.
Le piastre vengono quindi coperte ed incubate.

Incubazione: 10-16 giorni a 20°C sotto luce fluorescente alternata al buio sino a quando le colonie raggiungono il diametro di circa 2 cm.

Esame: osservare ogni colonia al microscopio (100-400 ingrandimenti) per ricercare i polifialidi, microconidi e macroconidi caratteristici del fungo. Le colonie con microconidi catenulati o piriformi, o con clamidospore, non saranno conteggiate, anche se in esse sono presenti polifialidi.

13.4.3.3 Cruciferae

A) Leptosphaeria maculans (Desm.) Ces. et de Not., stato imperfetto: Phoma lingam (Tode ex Fr.) Desm. su Cruciferae.

Campione di lavoro: 1000 semi.

Substrato: carta da filtro (Whatman n. 1).

Metodo: porre 3 dischi di carta da filtro in ogni capsula Petri e aggiungere 5 ml di una soluzione allo 0,2% del sale di sodio dell'acido 2-4 dicloro-fenossiacetico per inibire la germinazione del seme. Togliere l'eccesso della soluzione di (2-4D), lavare i semi in acqua sterile e porre 50 di essi in ciascuna capsula.

Incubazione: 11 giorni a 20°C con cicli alternati di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: dopo 6 giorni esaminare ad ingrandimento di 25 x per osservare la crescita di micelio bianco-argento, aereo e i primordi dei picnidi

di Phoma lingam sul seme e sul substrato. Dopo 11 giorni fare un secondo esame per osservare i picnidi sui semi infetti e sulla carta da filtro vicino ai semi infetti. Sono conteggiati come infetti i semi dai quali si sono sviluppati picnidi di P. lingam.

B) Alternaria brassicicola (Schw.) Wilts. su Brassica spp.

a) Campione di lavoro: 1000 semi.
Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 50 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 6 giorni a 18-20°C con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: individuare la presenza di macchie scure allungate sui cotiledoni e sull'ipocotile e, conidi di colore da verde oliva a bruno scuro. disposti in catene e provvisti di rostro corto, non ben visibile. La misura dei conidi è di 18-120 x 8-20 m. I setti verticali sono meno frequenti che in A. brassicae e i conidi di colore più scuro. Il corpo del conidio è molto più lungo di quello di A. tenuis.

b) Campione di lavoro: 1000 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 25 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 5 giorni a 18-20°C preferibilmente con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: ricercare le colonie con micelio aereo di colore verde oliva chiaro, aspetto vellutato, con fruttificazioni conidiche disposte a cerchi concentrici.

C) Alternaria brassicae (Berk.) Sacc. su Brassica spp.

a) Campione di lavoro: 1000 semi.

Substrato: carta.

<u>Metodo</u>: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 50 semi in ciascuna capsula.

<u>Incubazione</u>: 6 giorni a 18-20°C con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

<u>Esame</u>: individuare la presenza di macchie scure e strisce sui cotiledoni e sull'ipocotile, non così scure come in <u>A. brassicicola</u>. Conidi di colore da verde oliva chiaro a bruno, con setti longitudinali e trasversali, provvisti di rostro. I conidi misurano 75-350 x 20-30 m. Il rostro è lungo da 1/3 a 1/2 della lunghezza totale del conidio.

b) <u>Campione di lavoro</u>: 1000 semi.

<u>Pretrattamento</u>: ipoclorito di sodio.

<u>Substrato</u>: agar malto.

<u>Metodo</u>: deporre 25 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

<u>Incubazione</u>: 5 giorni a 18-20°C preferibilmente con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

<u>Esame</u>: ricercare le colonie con micelio aereo cotonoso, di colore bianco o rosa, con zone di fruttificazioni conidiche disposte a cerchi, di colore da verde chiaro a verde oliva scuro. Il micelio sommerso non colorato o di colore verde scuro, presenta crescita radiale o ondulata. La fruttificazione conidica è abbondante.

13.4.3.4 <u>Graminaceae</u>

A) <u>Leptosphaeria nodorum</u> Müller, stato imperfetto: <u>Septoria nodorum</u> Berk. su <u>Triticum aestivum</u>:

a) <u>Campione di lavoro</u>: 400 semi.

<u>Substrato</u>: carta.

<u>Metodo</u>: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

<u>Incubazione</u>: 14 giorni a 10°C al buio.

<u>Esame</u>: individuare la presenza di macchie brune sul coleoptile, con o senza attorcigliamento del germinello. Il coleoptile appare spesso

accorciato e piccole protuberanze scure possono essere presenti sul germinello, specie se l'umidità è scarsa. In condizioni di umidità elevata, dopo 2 giorni, si sviluppano sul coleoptile i picnidi di S. nodorum. Se il periodo di incubazione è più breve e la temperatura più elevata, le protuberanze sono meno evidenti.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto o agar patate-destrosio, contenente 100 mg/l di solfato di streptomicina.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 22°C al buio.

Esame: ricercare le colonie rotonde, a crescita lenta, finemente lanose, con micelio aereo bianco che spesso ricopre il seme. Il retro della colonia è di colore giallo, giallo scuro, tendente al colore oliva, molto variabile. I picnidi difficilmente si sviluppano durante il periodo della prova.

B) Monographella nivalis (Schaffn.) Muller sin. Micronectriella nivalis (Schaffn.) Booth, stato imperfetto: Gerlachia nivalis (Ces.ex Sacc.) Gams et Muller, sin. Fusarium nivale (Fr.) Ces., su Triticum aestivum:

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi in ogni capsula Petri, dopo averli rapidamente immersi in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 14 giorni a 8-10°C al buio.

Esame: esaminare ogni seme per reperire il caratteristico micelio poco abbondante, accompagnato da masse conidiche di colore rosa-arancio. Piccole masse conidiche sparse possono apparire su un seme e sulla carta in prossimità di questo. Sui semi germinati si può osservare una colorazione scura del coleoptile, diffusa o ristretta in piccole zone. Le radici sono imbrunite alla base.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 8 giorni a 22°C a luce diurna o fluorescente, oppure al buio.

Esame: ricercare le colonie a crescita rapida, di colore da bianco a rosa pallido, con formazione di cordoni o filamenti miceliali. Con esposizione alla luce si producono, durante la prova, conidi ialini, 1-3 settati, curvi, 10-30 x 2,5-5 m.

C) Ustilago nuda (Ojens.) Rostr. su Hordeum vulgare:

a) Campione di lavoro: 2 ripetizioni di 100-120 g di semi che contengono, in relazione al peso dei 1000 semi, da 2000 a 4000 semi.

Metodo: porre il campione di lavoro in 1 litro di una soluzione acquosa al 5% di idrato di sodio (NaOH), preparata di fresco. Mantenere in immersione a 20°C per 24 ore.

Trascorso questo tempo trasferire l'intero campione in un adatto contenitore e lavare i semi in acqua tiepida per separare gli embrioni che fuoriescono dai pericarpi ammorbiditi. Raccogliere gli embrioni in un setaccio con fori di 1 mm. Se necessario, si possono usare setacci con fori più grandi per separare i pezzi di endosperma e la pula. Trasferire gli embrioni in una miscela in parti uguali di lattofenolo (un terzo di glicerolo, un terzo di fenolo e un terzo di acido lattico) e acqua, nella quale si potrà fare l'ulteriore separazione di embrioni e pula.

Trasferire gli embrioni in un becker contenente lattofenolo privo di acqua e rischiararli mantenendo il lattofenolo al punto di ebollizione per circa 30 secondi sotto cappa.

Trasferire gli embrioni in glicerina, leggermente tiepida, per l'esame.

Esame: esaminare 1000 embrioni per ciascuna replicazione con ingrandimento di 16-25 x e con adeguato apparecchio di illuminazione per osservare il micelio caratteristico di colore bruno chiaro di Ustilago nuda.

b) Campione di lavoro: 2 ripetizioni di 100-120 g di semi che contengono, in relazione al peso dei 1000 semi, da 2000 a 4000 semi.

Metodo: porre il campione di lavoro in un litro di una soluzione acquosa al 5% di idrato di sodio (NaOH) preparata di fresco alla quale sia stato aggiunto 1,5/l di blu di tripano (trypan blu). Mantenere in immersione a 20°C per 2 ore.

Trascorso questo tempo, trasferire l'intero campione in un adatto contenitore e lavorare i semi in acqua tiepida per separare gli embrioni che fuoriescono dai pericarpi ammorbiditi. Raccogliere gli embrioni in un setaccio con fori di 1 mm. Se necessario, si possono usare setacci con fori più grandi per separare i pezzi di endosperma e la pula. Gli embrioni vengono riuniti in un adatto contenitore (es: colino metallico) con maglie uguali o inferiori ad un mm e vengono immersi per 2 minuti in alcol etilico, scolati, quindi trasferiti in una miscela di acido lattico, glicerina ed acqua (1:2:1 in volume) nella quale si potrà fare l'ulteriore separazione di embrioni e pula utilizzando un imbuto di vetro collegato a un tubo di gomma lungo circa 10 cm, chiudibile con pinze di Mohr.

Trasferire gli embrioni in un becker contenente una miscela (1:2) di acido lattico e glicerina, portare all'ebollizione e mantenerla per circa 2 minuti, trasferire in glicerina leggermente tiepida per l'esame.

Esame: come per il metodo descritto al precedente punto a).

D) Pyrenophora graminea Ito e. Kuribay., stato imperfetto: Drechslera graminea (Rabenh. ex Schlecht.) Shoemaker, su Hordeum vulgare:

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 8 giorni a 20°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio, oppure 12 ore a 20°C alla luce (NUV o diurna) e 12 ore a 5-10°C al buio.

Esame: ricercare i conidiofori corti, di colore bruno scuro. Conidi più scuri dei conidiofori, 50-80 x 14-20 m, prevalentemente in catene di 2-3 conidi. In condizioni di elevata umidità si possono formare catene di 5-6 conidi.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar patate-destrosio o agar malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 8 giorni a 22°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: ricercare le colonie di colore grigio o verde oliva scuro, con sfumature di colore arancio, di solito senza produzione di conidi. Qualche volta si formano picnidi sul seme.

E) Pyricularia oryzae Cav. su Oryza sativa :

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: a) 7 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio; b) 1 giorno a 20°C, 1 giorno a -20°C e 5 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: esaminare i semi allo stereomicroscopio, 12-50 x. Generalmente il fungo produce colonie piccole, di colore grigio, localizzate sulle glume. I conidiofori sono corti, delicati e portano un grappolo di conidi all'apice. Raramente lo sviluppo del fungo riesce a coprire l'intero seme. Nei casi dubbi è necessario osservare i conidi a più forte ingrandimento (200-400 x): essi appaiono tipicamente piriformi, ialini, con la base troncata e provvista di un piccolo dente, 2-settati, di solito con apice appuntito 20-25 x 9-12 m.

F) Cochliobolus miyabeanus (Ito et Kuribay.) Drechsl. ex Dastur, stato imperfetto: Drechslera oryzae (van Breda de Haan) Subramanian et Jain su Oryza sativa:

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente

contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 7 giorni a 22°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: ricercare i conidiofori prodotti non solamente sul tegumento del seme ma anche su micelio aereo, di colore grigio, che ricopre tutto o una parte del seme. Il fungo può invadere la carta. Nei casi dubbi, la conferma si può avere osservando i conidi a maggiore ingrandimento (200 x). I conidi, di colore da giallo a bruno chiaro, di solito curvi, più larghi nella parte mediana e progressivamente assottigliati verso gli apici arrotondati, misurano 35-170 x 11-17 m. Si può osservare, a volte, anche marciume dei germinelli.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 22°C alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: ricercare le colonie di colore bruno scuro, a crescita rapida, con margini regolarmente circolari e produzione di poco micelio aereo di colore bianco o grigio. Rapida fruttificazione conidica.

13.4.3.5 Leguminosae

A) Ascochyta pisi Lib. su Pisum sativum:

Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto o agar patate-destrosio.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo 7 giorni esaminare ogni seme ad occhio nudo per osservare l'abbondante micelio bianco che spesso ricopre i semi infetti. L'identificazione delle colonie fungine in dubbio potrà essere confermata dalla presenza di ife ondulate nella parte aerea della

colonia, quando osservate con ingrandimento di 25 x.

B) Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. su Phaseolus vulgaris:

Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: carta in fogli di almeno 35 x 45 cm.

Metodo: distribuire i semi in replicazioni di 50 su due fogli di carta, che è stata prima bagnata in acqua. Coprire i semi con un altro foglio dello stesso tipo di carta bagnata in acqua. Ripiegare la carta due volte nel senso della lunghezza e coprire con un foglio di polietilene per mantenere l'umidità durante l'incubazione.

Incubazione: 7 giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo 7 giorni rimuovere il tegumento dei semi e osservare la presenza di macchie scure con margini ben definiti sui cotiledoni. Per le osservazioni usare lo stereomicroscopio con ingrandimento 25 x e conteggiare i semi che presentano acervuli con sete nere, settate.

13.4.3.6 Linaceae

A) Alternaria linicola Groves, et Skolko su Linum usitatissimum:

Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: nessuno.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo averli rapidamente immersi in un recipiente contenente acqua sterile. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 6-8 giorni a 20°C con esposizione a luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: l'osservazione delle fruttificazioni sviluppatesi sui semi va effettuata allo stereomicroscopio, (12-40 x), talvolta su cotiledoni ed ipocotili si formano lesioni scure. Nella parte terminale dei conidiofori, di colore scuro, si inserisce un solo conidio

(150-300 x 17-24 m) caratterizzato da un lungo rostro; quest'ultimo carattere e l'assenza di catenelle di conidi differenzia questo micete da altre specie di Alternaria.

B) Botrytis cinerea Pers. su Linum usitatissimum:

Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: agar malto al 2% di agar e 1% di estratto di malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 20°C al buio.

Esame: dopo 5 e 7 giorni osservare le radichette affette da marciume molle e coperte da abbondante micelio grigio. Nei casi dubbi si può avere conferma mediante l'osservazione con ingrandimento di 200 x, per individuare le ife settate, nastriformi e i ciuffi di conidiofori ramificati.

13.4.3.7 Umbelliferae

A) Alternaria dauci (Kühn) Groves et Skolko su Daucus carota:

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 10 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: individuare i germinelli affetti da marciume molle e la presenza di conidi di colore da giallo a bruno chiaro, provvisti di un lungo rostro all'apice. I conidi misurano 100-450 x 16-25 m. Il rostro è lungo 3 volte la lunghezza del corpo del conidio.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 20°C al buio.

Esame: ricercare le colonie scure con micelio aereo di colore grigio verde e diffusione caratteristica di un pigmento bruno nell'agar. L'esposizione alla luce NUV può facilitare la fruttificazione conidica.

B) Alternaria radicina Meier, Drechsl. et Eddy, sin. Stemphylium radicinum (Meier, Drechsl. et Eddy) Neerg., su Daucus carota:

a) Campione di lavoro: 400 semi.

Substrato: carta.

Metodo: porre i dischi di carta in ogni capsula Petri, dopo rapida immersione in un recipiente contenente acqua. Togliere l'eccesso di acqua e porre 25 semi in ciascuna capsula.

Incubazione: 10 giorni a 20°C preferibilmente alla luce NUV, cicli di 12 ore di luce e 12 ore di buio.

Esame: ricerca dei sintomi di marciume molle dei semi e dei germinelli e presenza di conidi scuri, lucenti, a forma di botte, provvisti di setti trasversali e longitudinali, 25-57 x 9-27 m.

b) Campione di lavoro: 400 semi.

Pretrattamento: ipoclorito di sodio.

Substrato: agar malto.

Metodo: deporre 10 semi sulla superficie dell'agar in ciascuna capsula Petri.

Incubazione: 7 giorni a 20°C; la luce, applicata come al metodo di cui al punto a), può facilitare la produzione di conidi.

Esame: ricercare le colonie di colore grigio oliva scuro, con abbondante micelio aereo grigio. Il margine delle colonie può essere molto irregolare o circolare. La produzione di conidi può essere facilitata dalla esposizione alla luce. Di solito gli isolati producono nell'agar cristalli caratteristici, durante il periodo della prova, che consentono di distinguere le colonie da quelle di Alternaria tenuis.

13.5. Espressione dei risultati

I risultati vengono espressi in percentuale di semi infetti.

Nel caso del metodo 13.4.3.1 (b) il risultato verrà espresso in numero di campioni di 700 semi infetti sui 10 saggiati.

Nel certificato deve essere anche riportata l'indicazione del metodo usato, del pretrattamento nei casi in cui è stato effettuato e la quantità di campione, o frazione, esaminata.

Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Agropyron cristatum (L.) Gaertn (Agropiro crestato)	1,40	10.000	40	4	40
Agropyrum desertorum (Fish ex Linck) Schult. (Agropiro dei deserti)	2,30	10.000	60	6	60
Agropyron trachycaulum (Link) Malte ex H. Lewis (Agropiro tenute)	2,90	10 000	80	8	80
Agrostis canina L. (Agrostide canina)	0,08	10.000	50	0,5	5
Agrostis capillaris L. (= A. tenuis sibrh.)	0,08	10 000	50	0,5	5
Agrostis gigantea Roth (Agrostide bianca)	0,08	10 000	50	0,5	5
Agrostis stolonifera L. incluso A. palustris Huds (Agrostide stolonifera e A. palustre)	0,08	10.000	50	0,5	5
Allium cepa L. (Cipolla)	3,60	10.000	80	8	80
Allium porrum L. (Porro)	2,70	10 000	70	7	70
Allium schoenoprasum L. (Erba cipollina)	1,10	10 000	30	3	30
Alopecurus pratensis L. (Coda di volpe)	0,80	10.000	100	3	30
Anethum graveolens L. (Aneto)	1,00	10 000	40	4	40
Angelica archangelica L. (Angelica)	4,00	10.000	100	10	100
Anthoxanthum odoratum L. (Paleo odoroso)	0,60	10.000	25	2	20
Anthriscus cerefolium (L.) Hoffm. (Cerfoglio)	2,20	10.000	60	6	60
Anthyllis vulneraria L. (Antillide)	2,50	10 000	60	6	60
Apium graveolens L. (Sedano)	0,30	10.000	25	1	5
Arachis hypogaea L. (Arachide)	60-100	20 000	1000	1000	1000
Arrhenatherum elatius (L.) P. Beauv. ex J.S. et K.B. Presl. (Avena altissima)	3,00	10.000	20	8	80
Asparagus officinalis L. (Asparago)	20,00	20.000	100	10	100
Atriplex hortensis L. (Atreplice)	4,00	10 000	100	10	100
Atropa belladonna L. (Belladonna)	1,10	10 000	30	3	30
Avena byzantina K. Koch (Avena bizantina)	40,00	25 000	1000	100	1000
Avena sativa L. (Avena)	33,00	25.000	1000	120	1000
Barbarea verna (Mill.) Ascher (Barbarea)	0,80-0,90	10.000	25	2,5	25
Beta vulgaris L. (Barbabietola)	20,00	20 000	500	50	500
Borago officinalis L. (Borragine)	18,00	20.000	450	45	450
Brassica chinensis L. (Cavolo sedano)	2,50	10 000	40	4	40

Segue: Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Brassica juncea L. Czern; et Cosson (Senape indiana)	2,10	10.000	40	4	40
Brassica napus L. (Colza)	4,00	10.000	200	10	100
Brassica napus L. var. napobrassica (L.) Reichb. (Navone e Rutabaga)	2,70	10.000	200	10	100
Brassica nigra (L.) Koch (Senape nera)	2,00	10.000	100	4	40
Brassica oleracea L. (Cavolo)	3,00	10 000	200	10	100
Brassica pekinensis (Lour) Rupr. (Cavolo cinese)	2,00	10 000	40	4	40
Brassica rapa L. incl B campestris L. subsp. oleifera DC. (Rapa e Ravizzone)	1,90	10.000	200	7	70
Bromus arvensis L. (Bromo arvense)	2,30	10.000	60	6	60
Bromus catharticus Vahl (Bromo di Schrader)	--	10.000	200	--	200
Bromus erectus Ruds (Bromo eretto)	3,90	10.000	100	10	100
Bromus inermis Leyss (Bromo inerme)	3,30	10.000	90	9	90
Brómus sitchensis Trin	--	10.000	200	--	200
Cajanus cajan (L.) Millsp (Pisello del tropico)	150,00	20 000	1000	300	1000
Camelina sativa (L.) Crantz (Camelina)	1,60	10 000	40	4	40
Cannabis sativa L. (Canapa)	20,00	10.000	600	60	600
Capsicum spp. (Peperone)	6,50	10.000	150	15	150
Carthamus tinctorius L. (Cartamo)	40,00	10.000	900	90	900
Carum carvi (Carvi)	3,00	10.000	200	8	80
Cicer arietinum L. (Cece)	400,00	20 000	1000	1000	1000
Cichorium endivia L. (Endivia e Scarola)	1,30	10 000	40	4	40
Cichorium intybus (Cicoria e Radicchio)	1,30	10 000	50	5	50
Citrullus lanatus (Thunb.) Matsumura et Nakai (= C. vulgaris Schrad) (Cocomero)	100,00	20.000	1000	250	1000
Coriandrum sativum L. (Coriandolo)	12,00	10.000	400	40	400
Coronilla varia L. (Coronilla)	3,40	10.000	100	10	100
Cucumis melo L. (Melone)	30,00	10 000	150	70	150
Cucumis sativus L. (Cetriolo)	30,00	10.000	150	70	150
Cucurbita maxima Duch. (Zucca)	250,00	20 000	1000	700	1000
Cucurbita moschata (Duch) Duch ex poiret (Zucca torta)	250,00	20 000	350	180	350
Cucurbita pepo L. (Zucchino)	150,00	20 000	1000	700	1000
Cuminum cyminum L. (Cumino)	2,10	10.000	60	6	60
Cynara cardunculus L. (Cardo)	35,00	20 000	900	90	900

Segue: Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Cynara scolymus L. (Carciofo)	55,00	20.000	1000	120	1000
Cynodon dactylon (L.) Pers (Gramigna)	0,25	10.000	50	1	5
Cynosurus cristatus L. (Coda di Cane)	0,55	10.000	25	2	20
Dactylis glomerata L. (Erba mazzolina)	1,10	10 000	100	3	30
Daucus carota L. (Carota)	0,85	10.000	30	3	30
Deschampsia caespitosa (L.) P Beauv (Aira cespitosa)	0,10	10 000	25	1	10
Deschampsia flexuosa (L.) Trin (Aira flessuosa)	0,40	10 000	25	1	10
Dichondra repens Forst et G Forst (Dicondra)	2,20	10 000	50	5	50
Dolichos lablab L. (Fagiolo d'Egitto)	280,00	20 000	1000	600	1000
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv (Giavone, miglio giapponese)	3,10	10 000	80	8	80
Eragrostis curvula (Schrader) C G Nees (Eragrostide curvula)	0,40	10 000	25	1	10
Eruca sativa Miller (Rucola)	1,60	10 000	40	4	40
Fagopyrum esculentum Moench (Grano saraceno)	20,00	10 000	600	60	600
Festuca arundinacea Schreber (Festuca arundinacea)	2,50	10 000	100	5	50
Festuca ovina L. sensulat., incl F tenuifolia Sibth (Festuca ovina, varietà diverse e Festuca tenuifoglia)	0,90	10 000	100	3	30
Festuca pratensis Huds (Festuca pratense)	2,00	10 000	100	5	50
Festuca rubra L (Festuca rossa) (varietà diverse)	1,20	10.000	100	3	30
Foeniculum vulgare Miller (Finocchio)	3,50	10 000	180	18	180
Fragaria vesca L. (varietà diverse) (Fragola)	0,35	10 000	10	1	10
Glycine max (L.) Merrill (Soia)	120-180	20.000	1000	500	1000
Gossypium spp. (Cotone)	125,00	20.000	1000	350	1000
Hedysarum coronarium L. (Frutto) (Sulla)	9,00	10.000	1000	30	300
Hedysarum coronarium L. (Seme) (Sulla)	4,50	10.000	400	12	120
Helianthus annuus L. (Girasole)	80,00	20.000	1000	200	1000
Hibiscus cannabinus L. (Ibisco)	28,00	10.000	700	70	700
Hibiscus esculentus L. (Ocra)	75,00	20.000	1000	140	1000
Holcus lanatus L. (Erba bambagiona)	0,45	10.000	25	1	10
Hordeum vulgare L. (Orzo)	45,00	25 000	1000	120	1000
Humulus lupulus L. (Luppolo)	5,00	10.000	150	15	150
Lactuca sativa L. (Lattuga)	0,90	10 000	30	3	30

Segue: Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Lagenaria siceraria (Mol.) Standl (Lagenaria)	200,00	20.000	1000	500	1000
Lathirus cicera L. (Cicerchiella)	90,00	20.000	1000	140	1000
Lathyrus sativus L. (Cicerchia)	180,00	20.000	1000	450	1000
Lavandula spica L. (Lavanda)	1,00	10 000	25	2,5	25
Lens culinaris Medik. (Lenticchia)	50,00	10.000	600	60	600
Lepidium sativum L. (Agretto)	2,50	10.000	60	6	60
Lespedeza hedysaroides (Pall. Kitagawa (= L. Juncea L. f.) (Lespedeza sericea o perenne)	1,20	10.000	30	3	30
Lespedeza stipulacea Maxim (Lespedeza della Corea)	2,00	10.000	50	5	50
Lespedeza striata (Thunb ex Murray) Hook. et Arn. (Lespedeza comune)	2,00	10.000	40	4	40
Linum usitatissimum L. (Lino)	5-12,00	10.000	300	15	150
Lolium multiflorum Lam. (Loglio italico, L. comue e L. vestervoldico)	2,00	10 000	200	6	60
Lolium multiflorum Lam x perenne L (Loglio ibrido)	2,00	10.000	200	6	60
Lolium perenne L. (Loglio perenne)	2,00	10.000	200	6	60
Lotus corniculatus L. (Ginestrino)	1,20	10 000	200	3	30
Lotus uliginosus Schk (Ginestrino palustre)	0,55	10.000	25	2	20
Lupinus albus L. (Lupino bianco)	300-500,00	20 000	1000	450	1000
Lupinus angustifolius L. (Lupino azzurro)	150-200,00	20.000	1000	450	1000
Lupinus luteus L. (Lupino giallo)	120-180,00	20 000	1000	450	1000
Lycopersicon lycopersicum (L.) Karsten ex Farw. (= L. esculentum Mill.) (Pomodoro)	2,70	10 000	70	7	70
Matricaria chamomilla L. (Camomilla)	0,04	1.000	5	0,5	5
Medicago lupulina L. (Lupolina)	1,80	10.000	300	5	50
Medicago sativa L. (Erba medica)	2,00	10.000	300	5	50
Medicago x varia T. Martyn (Medica variegata)	2,00	10.000	300	5	50
Melilotus alba Medik. (Meliloto bianco)	1,90	10 000	50	5	50
Melilotus officinalis (L.) Pall. (Meliloto giallo)	1,90	10.000	50	5	50
Melissa officinalis L. (Melissa)	0,50	10 000	15	1,5	15
Nasturtium officinale R. Br. (Crescione d'acqua)	0,15	10.000	25	0,5	5
Nicotiana tabacum L. (Tabacco)	0,07	10.000	25	0,5	5

Segue: Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Ocimum basilicum L. (Basilico)	1,40	10 000	40	4	40
Onobrychis viciifolia Scop (Frutto) (Lupinella)	20,00	10 000	600	60	600
Onobrychis viciifolia Scop (Seme) (Lupinella)	15,00	10 000	400	40	400
Origanum majorana L. (= Majorana hortensis Moench) (Maggiorana)	0,20	10 000	25	0,5	5
Origanum vulgare L. (Origano)	0,20	10 000	25	0,5	5
Ornithopus sativus Brot. (Serradella)	4,00	10 000	90	9	90
Oryza sativa L. (Riso)	28-45,00	25 000	1000	140	1000
Panicum miliaceum L. (Miglio)	5,30	10 000	150	15	150
Papaver somniferum L. (Papavero da oppio)	0,45	10 000	50	1	10
Pastinaca sativa L. (Pastinaca)	3,00	10 000	100	20	100
Pennisetum typhoides (Burm f.) Stapf et C E Hubb. (= P. glaucum L.R.Br.) (Miglio perlato)	5,00	10 000	150	15	150
Petroselinum crispum (Miller) Nyman ex A W Hill (= P. hortense auct.) (Prezzemolo)	1,50	10.000	40	4	40
Phacelia tanacetifolia Benth (Facelia)	2,00	10 000	300	5	40
Phalaris aquatica L. (Erba di Harding)	--	10 000	100	4	50
Phalaris arundinacea L. (Falaride arundinacea)	0,80	10 000	30	3	30
Phalaris canariensis L. (Scagliola)	7,80	10 000	400	20	200
Phalaris stenoptera Hack (= P. tuberosa L. var stenoptera (Hack.) Hitchc.) (Falaride tuberosa)	1,30	10 000	40	4	40
Phaseolus angularis (Willd.) Wight (Fagiolo adzuki)	50,00	20 000	1000	250	1000
Phaseolus coccineus L. (Fagiolo di Spagna)	800-1400,00	20 000	1000	1000	1000
Phaseolus lunatus L., inc P. Limensis Macfad (Fagiolo di Lima)	600-900,00	20 000	1000	1000	1000
Phaseolus mungo L. (Fagiolo mungo)	20-80	20 000	1000	200	1000
Phaseolus radiatus L. (P. aureus Roxb.) (Vigna radiata)	40,00	20 000	1000	120	1000
Phaseolus vulgaris L. (Fagiolo)	200-600,00	20 000	1000	700	1000
Phleum bertolonii DC (Fleolo bulboso)	0,40	10.000	50	1	10
Phleum pratense L. (Fleolo)	0,40	10 000	50	1	10
Physalis pubescens L. (Alchechengio pubescente)	0,80	10 000	25	2	20
Pimpinella anisum L. (Anice)	3,00	10 000	70	7	70
Pisum sativum L. (varietà diverse) (Pisello e P da foraggio)	200-300,00	20 000	1000	900	1000
Poa annua L. (Poa annua)	0 35	10 000	50	1	10
Poa bulbosa L. (Poa bulbosa)	1,20	10 000	30	3	30
Poa compressa L. (Poa compressa)	0,20	10 000	25	0,5	5
Poa nemoralis L. (Fienarola dei boschi)	0,15	10 000	50	0,5	5
Poa palustris L. (Fienarola delle paludi)	0,15	10 000	50	0,5	5
Poa pratensis L. (Erba fienarola)	0,25	10 000	50	1	10
Poa trivialis L. (Poa comune)	0,20	10 000	50	0,5	5
Raphanus sativus L. (Ravanello)	8,00	10 000	300	30	300

Segue: Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Rheum rhaponticum L. (Rabarbaro)	15,00	10.000	450	45	450
Ricinus communis L. (Ricino)	300-700,00	20.000	1000	500	1000
Rosmarinus officinalis L. (Rosmarino)	1,00	10.000	30	3	30
Rumex acetosa L. (Acetosa)	0,85	10.000	30	3	30
Ruta graveolens L. (Ruta)	1,90	10.000	50	5	50
Salsola soda L. (Roscano)	10,00	10.000	250	25	250
Salvia officinalis L. (Salvia)	9,00	10.000	250	25	250
Sanguisorba minor Scop. (Pimpinella)	9,50	10.000	250	25	250
Satureja hortensis L. (Santoreggia)	0,80	10.000	20	2	20
Scorzonera hispanica L. (Scorzonera)	11,00	10.000	300	30	300
Secale cereale L. (Segale)	27,00	25.000	1000	120	1000
Sesamum indicum L. (Sesamo)	2,20	10.000	70	7	70
Setaria italica (L.) P. Beauv. (Panico)	2,70	10.000	90	9	90
Sinapis alba L. (Senape bianca)	6,00	10.000	400	20	200
Solanum melongena L. (Melanzana)	3,80	10.000	150	15	150
Sorghum almum Parodi (Sorgo almo)	7,00	10.000	200	20	200
Sorghum bicolor (L.) Moench (= S. vulgare Pers.) var. diverse (Sorgo zuccherino e saggina)	25,00	10.000	900	90	900
Sorghum halepense (L.) Pers. (Sorgagna)	3,60	10.000	90	9	90
Sorghum sudanense (Piper) Stapf (Sorgo gentile)	10,00	10.000	250	25	250
Sorghum spp.		10.000	100	--	900
Spinacia oleracea L. (Spinacio)	11,00	10.000	250	25	250
Taraxacum officinale Wigg. (Tarassaco)	1,20	10.000	30	3	30
Tetragonia tetragonioides (Pall.) Kuntze. (= T. expansa Thunb. ex Murr.) (Spinacio della Nuova Zelanda)	75,00	20.000	1000	200	1000
Thymus vulgaris L. (Timo)	0,18	10.000	25	0,5	5
Tragopogon porrifolius L. (Scorzobianca)	15,00	10.000	400	40	400
Trifolium alexandrinum L. (Trifoglio alessandrino)	2,70	10.000	400	6	60
Trifolium campestre Schreb. (Trifoglio campestre)	0,34	10.000	25	0,5	5
Trifolium dubium Sibth. (Trifoglio filiforme)	0,45	10.000	25	2	20
Trifolium fragiferum L. (Trifoglio fragifero)	1,25	10.000	40	4	40
Trifolium hybridum L. (Trifoglio ibrido)	0,75	10.000	200	2	20
Trifolium incarnatum L. (Trifoglio incarnato)	3,30	10.000	500	8	80

Segue: Allegato I-A

PESO MEDIO DI 1000 SEMI, PESO MASSIMO DEL LOTTO, PESO MINIMO DEL CAMPIONE MEDIO DI PRELEVAMENTO E PESI MINIMI DEI CAMPIONI DI ANALISI

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g	Peso minimo dei campioni di analisi per la determinazione del numero dei semi estranei g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Trifolium pratense L. (Trifoglio pratense)	1,60	10.000	300	5	50
Trifolium repens L. (Trifoglio bianco e T. ladino)	0,60	10.000	200	2	20
Trifolium resupinatum L. (Trifoglio resupinato)	0,80	10.000	200	2	20
Trifolium squarrosum L. (Trifoglio squarroso)	5,50	10.000	150	15	150
Trifolium subterraneum L. (Trifoglio sotterraneo)	5,00	10.000	250	25	250
Trigonella foenum graecum L. (Fieno greco)	18,00	10.000	500	50	450
Trisetum flavescens (L.) P. Beauv. (Avena bionda)	0,5	10.000	50	0,5	5
Triticosecale Wittm (Triticale)	47,00	25 000	1000	120	1000
Triticum aestivum L. emed Fiori et Paoletti (Frumento tenero)	38,00	25 000	1000	120	1000
Triticum durum (Desf.) (Frumento duro)	50,00	25.000	1000	120	1000
Triticum spelta L. (Spelta)	55-105,00	25.000	1000	200	1000
Triticum turgidum L. (Frumento turgido)	28-70,00	25.000	1000	200	1000
Valeriana officinalis L. (Valeriana)	1,20	10 000	100	3	30
Valerianella locusta (L.) Laterrade (= V olitoria L. Poll.) (Valerianella)	2,00	10 000	70	7	70
Vicia ervilia (L.) Willd. (Vecciolo)	40,00	20.000	1000	120	1000
Vicia faba L. (Fava, Favetta e Favino)	400-2000,00	20.000	1000	1000	1000
Vicia narbonensis L. (Veccia di Narbona)	220,00	20 000	1000	600	1000
Vicia pannonica Crantz (Veccia della Pannonia)	40,00	20 000	1000	120	1000
Vicia sativa L., incluso V. angustifolia L. (Veccia sativa e Veccia angustifoglia)	55,00	20 000	1000	140	1000
Vicia sativa Roth., incluso V. dasycarpa Ten Veccia vellutata e Veccia dasicarpa)	25	20 000	1000	100	1000
Vigna unguiculata (L.) Walpers (incl V. Sinensis (L.) Savi ex Hassk.; Dolichos biflorus (L.) (Vigna cinese e Fagiolo dall'occhio)	60-160	20 000	1000	400	1000
Zea mays L. (Mais) (varietà diverse)	100-500,00	40.000	1000	900	1000

Colonna 4 - Per le specie per le quali sono richieste determinazioni particolari (per es.. numero di semi di specie dannose, numero di cariossidi rosse nel riso, umidità) e nel caso di miscugli, il peso minimo del campione medio di prelevamento non deve essere inferiore a quello indicato nelle apposite sezioni. Per sementi molto costose o per lotti di semi di peso inferiore o uguale a 0,1% del peso massimo indicato nella colonna 3, il peso del campione sarà conforme a quanto precisato nella sezione 1.3 3.b.

Colonna 6 - I pesi minimi indicati non si applicano nel caso della ricerca di semi di specie estranee o dannose per i quali norme legislative e regolamentari prevedono l'assenza o la limitazione in numero. Per queste determinazioni si devono osservare le direttive date nella sezione 4.2.

Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Agropyron cristatum (L.) Gaertn.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Agropyrum desertoum (Fish. ex Linck) Schult.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Agropyron trachycaulum (Link) Malte ex H. Lewis	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Agrostis canina L.	C	s	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Agrostis capillaris (= A. tenuis sibth.)	C	s	20-30	L	7	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Agrostis gigantea Roth	C	s	20-30	L	5	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Agrostis stolonifera L. (incl. A. palustris Huds.)	C	s	20-30	L	7	28	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Allium cepa L.	C	m	20	--	6	12	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Allium porrum L.	C	m	20	--	6	14	Preref. + 5°C per 7 gg. - Luce
Allium schoenoprasum L.	C	m	20	--	6	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Alopecurus pratensis L.	C	s	20-30	L	7	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Anethum graveolens L.	TC	s	20-30	--	7	21	Preref. + 5°C per 2 gg - Luce
Angelica archangelica L.	TC	s	20-30	--	7	28	Preref. + 5°C per 2 gg. - Luce
Anthoxanthum odoratum L.	C	s	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Anthriscus cerefolium (L.) Hoffm.	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg
Anthyllis vulneraria L.	C	m	20	--	5	10	Preref. + 10°C per 2 gg. - Prova a 15°C
Apium graveolens L.	C	s	20-30	L	10	21	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO3
Arachis hypogaea L.	S	m	20-30	--	--	10	Rimuovere i gusci, preriscaldamento a 40°C fino a 14 gg. - Prova a 25°C - Luce
Arrhenatherum elatius (L.) P. Beauv. ex J.S. et K.B. Presl.	C	m	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Asparagus officinalis L.	SS	s	20-30	--	10	28	Preref. + 5°C per 5 gg.
Atriplex hortensis L.	TC	s	20-30	--	7	28	Prova a 10°C
Atropa belladonna L.	C	m	20-30	L	12	28	Preref. + 5°C per 2 gg. - KNO3
Avena byzantina K. Koch	S	m	20	--	5	10	Prere. + 5°C per 2 gg. - Luce - KNO3 GA3 - Prova a 10°C o 15°C
Avena sativa L.	S	m	20	--	5	10	Prere. + 5°C per 2 gg. - Luce - KNO3 - GA3 - Prova a 10°C o 15°C
Barbarea verna (Mill.) Ascher	C	m	20-30	--	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - KNO3 - Luce
Beta vulgaris L. varietà diverse	CP	s	20	--	4	14	Prelavaggio - poligermi: 2 ore; mon.gen.: 4 h - riasciugamento a 20-25°C; SS-prova a 20-30°C
Borago officinalis L.	C	m	20	L	7	21	---
Brassica chinensis L.	C	m	20-30	--	3	7	Preref. + 10°C per 2-3 gg. - Prova a 20°C - Luce
Brassica juncea (L.) Czernj et Cosson	C	m	20	L	3	7	Preref. + 10°C per 7 gg. - KNO3

Segue. Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Brassica napus L.	C	m	20	--	3	10	Preref + 10°C per 2-3 gg - Luce
Brassica napus L. var napobrassica (L.) Reichb	C	m	20	--	3	14	Preref + 10°C per 2-3 gg - Luce
Brassica nigra (L.) Koch	C	m	20	L	3	10	Preref + 10°C per 2-3 gg - KNO3
Brassica oleracea L. (varietà diverse)	C	m	20	--	3	10	Preref + 10°C per 2-3 gg - KNO3 - Luce
Brassica pekinensis (Lour.) Rupr.	C	m	20-30	--	3	7	Preref + 10°C per 2-3 gg - Prova a 20 °C - KNO3 - Luce
Brassica rapa L. incl. B campestris L. subsp oleifera DC	C	m	20	--	3	7	Preref + 10°C per 2 3 gg - KNO3 - Luce
Bromus arvensis L.	C	m	20-30	L	7	21	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Bromus catharticus Vahl	C	m	20-30	--	7	28	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Bromus erectus Huds	C	m	20-30	L	6	14	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Bromus inermis Leyss	C	m	20-30	L	6	14	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Bromus sitchensis Trin	C	m	20-30	--	7	21	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Cajanus cajan (L.) Millsp	S	m	20-30	--	4	10	---
Camelina sativa (L.) Crantz	C	m	20-30	L	4	10	--
Cannabis sativa L.	C	m	20-30	--	3	7	---
Capsicum spp	C	m	20-30	--	9	14	Preref + 5°C per 2 gg - KNO3 - Luce
Carthamus tinctorius L.	S	m	25	L	4	14	Prova 20-30°C
Carum carvi L.	C	s	20-30	L	7	21	---
Cicer arietinum L.	S	e	20	--	--	8	Luce
Cichorium endivia L.	C	m	20-30	L	4	14	Umidità elevata all'inizio della prova - KNO3 Prova a 20°C
Cichorium intybus L.	C	m	20-30	L	4	14	Umidità elevata all'inizio della prova - KNO3 Prova a 20°C
Citrullus lanatus (Thunb.) Matsumura et Nakai (= C. vulgaris Schrad.)	S	s	20-30	--	4	14	Prelavaggio per 6 ore - Prova a 25°C - Luce - CP
Coriandrum sativum L.	S	s	20	--	7	21	Prova a 20-30°C - TC - Luce
Coronilla varia L.	C	m	20	--	7	14	Prova a 25°C - Luce
Cucumis melo L.	S	s	20-30	--	4	8	Prova a 25°C - Luce - CP
Cucumis sativus L.	S	s	20-30	--	4	8	Prova a 25°C - Luce - CP
Cucurbita maxima Duch.	S	m	20-30	--	4	8	Prova a 25°C - Luce - CP
Cucurbita moschata (Duch.) Duch ex poiret	S	m	20-30	--	4	8	Prova a 25°C - Luce - CP
Cucurbita pepo L.	S	m	20-30	--	4	8	Prova a 25°C - Luce - CP
Cuminum cyminum L.	C	m	20-30	L	5	14	---
Cynara cardunculus L.	SS	m	20-30	--	7	21	Prelavaggio per 6 ore

Segue: Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Sub-strati	Umi-dità	Tempe-rature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Cynara scolymus L.	SS	m	20-30	--	7	21	Prelavaggio per 6 ore
Cynodon dactylon (L.) Pers.	C	s	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3 - Prova a 20-35°C
Cynosurus cristatus L.	C	m	20-30	L	10	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Dactylis glomerata L.	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Daucus carota L.	C	s	20-30	--	7	14	Prova a 20°C - Luce
Deschampsia caespitosa (L.) P. Beauv.	C	s	20-30	L	7	16	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Deschampsia flexuosa (L.) Trin.	C	m	20-30	L	7	16	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Dichondra repens Forst et G. Forst.	C	m	20-30	--	7	21	---
Dolichos lablab L.	S	s	25	--	4	10	Prova a 20-30°C - Luce
Echinochloa crus-galli (L.) P. Beauv	C	m	25	--	4	10	---
Eragrostis curvula (Schrader) Nees	C	m	15-30	L	6	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Eruca sativa Miller	C	m	20	--	4	7	---
Fagopyrum esculentum Moench	C	e	20-30	--	4	7	---
Festuca arundinacea Schreber	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Festuca ovina L. (varietà diverse; incl. F. tenuifolia Sibth.)	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3 - Preessiccamento
Festuca pratensis Huds.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Festuca rubra L. (varietà diverse)	C	m	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg. - KNO3
Foeniculum vulgare Miller	SS	s	20-30	L	6	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prova a 20°C - TC
Fragaria vesca L. (varietà diverse)	C	m	20	L	7	28	---
Glycine max (L.) Merrill	S	m	25	--	5	8	Prova a 20°C - Luce
Gossypium L. spp.	S	e	20-30	--	4	12	Imbibire completamente la bambagia ed asportare l'eccesso di acqua - Luce
Hedysarum coronarium L. (Frutto)	C	s	20	--	5	12	S - Luce
Hedysarum coronarium L. (Seme)	C	s	20	--	5	12	S - Luce
Helianthus annuus L.	S	m	20-30	--	4	10	Preref. + 5°C per 3 gg. - Preessiccamento - Prova a 25°C - Luce
Hibiscus cannabinus L.	CP	m	20-30	--	4	8	---
Hibiscus esculentus L.	CP	m	20-30	--	4	21	---
Holcus lanatus L.	C	s	20-30	L	-6	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Hordeum vulgare L.	C	m	20	L	4	7	Preref. + 5°C per 2 gg. - Preessiccamento; GA3 - KNO3 - S - TC
Humulus lupulus L.	CP	m	20	--	7	28	Prova a 10°C
Lactuca sativa L.	C	s	20	L	4	7	Preref. + 5°C per 2 gg. - Preessiccamento
Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.	S	e	20-30	--	4	14	Prelavaggio - CP

Segue Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Lathirus cicera L.	S	m	20	--	4	8	Luce
Lathyrus sativus L.	S	m	20	--	4	8	Luce
Lavandula spica L.	C	s	20-30	L	7	35	Preref. + 5°C per 2 gg
Lens culinaris Medik	TC	m	20	--	5	10	Preref. + 5°C per 2 gg S - Luce
Lepidium sativum L.	C	m	20	--	4	10	Preref. + 5°C per 2 gg - Prova a 20-30°C
Lespedeza hedysaroides (Pall. Kitagawa) = L. Juncea (L. f.) Pers.	CP	m	20-35	-- --	7	21	----
Lespedeza stipulacea Maxim	CP	m	20-35	--	5	14	----
Lespedeza striata (Thunb. ex Murr) Hook. et Arn	CP	m	20-35	--	7	14	----
Linum usitatissimum L.	C	m	20	--	3	7	Preref. + 5°C per 2 gg - Preessiccamento
Lolium multiflorum Lam	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg - Prova a 15-25°C
Lolium multiflorum Lam. x perenne L.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg - Prova a 15-25°C
Lolium perenne L.	C	m	20-30	L	5	14	Preref. + 5°C per 4-5 gg - Prova a 15-25°C
Lotus corniculatus L.	C	s	20	--	4	12	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Lotus uliginosus Schk	C	s	20	--	4	12	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Lupinus albus L.	S	m	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Lupinus angustifolius L.	S	m	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Lupinus luteus L.	S	m	20	--	10	21	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Lycopersicon lycopersicum (L.) Karsten ex Farw (= L. esculentum Mill.)	C	m	20-30	L	5	14	KNO3
Matricaria chamomilla L.	C	m	20-30	--	5	14	Luce
Medicago lupulina L.	C	m	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Medicago sativa L.	C	m	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Medicago x varia T. Martyn	C	m	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Melilotus alba Medik.	C	m	20	--	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. - Luce
Melilotus officinalis (L.) Pall	C	m	20	--	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg - Luce
Melissa officinalis L.	C	m	20-30	L	6	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg - Prova a 20°C
Nasturtium officinale R. Br.	C	m	20-30	--	4	14	Prova a 10-30°C - Luce
Nicotiana tabacum L.	C	s	20-30	L	7	16	----
Ocimum basilicum L.	C	m	20-30	--	4	14	KNO3 - Luce
Onobrychis viciifolia Scop. (Frutto)	S	s	20	--	4	14	Preref. + 10°C per 2 gg - C - Luce
Onobrychis viciifolia Scop. (Seme)	S	s	20	--	4	14	Preref. + 10°C per 2 gg - C - Luce

Segue: Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Origanum majorana L.	C	m	20	L	7	21	Prova a 15°C al buio - conteggio finale dopo 28 gg
Origanum vulgare L.	C	m	20	--	7	21	Prova a 15°C
Ornithopus sativus Brot.	C	m	20	--	7	14	----
Oryza sativa L.	C	e	20-30	--	7	14	Prova a 25°C - Prelavaggio a 40°C da 24 a 48 ore Luce
Panicum miliaceum L.	C	m	25	--	3	7	Prova a 20-30°C - Luce
Papaver somniferum L.	C	s	20	--	3	10	Preref + 5°C per 2 gg - L. - Prova a 10-30°C
Pastinaca sativa L.	C	s	20-30	--	6	28	Luce
Pennisetum typhoides (Brum f.) Stapf et C.E. Hubb (= P. glaucum L.R.Br.)	C	m	20-30	--	3	7	----
Petroselinum crispum (Hiller) Nyman ex A.W. Hill. (= P. hortense auct.)	C	s	20-30	--	10	28	Preref + 10°C per 4-5 gg - Luce - TC
Phacelia tanacetifolia Benth	C	m	20-30	--	5	14	Preref + 10°C per 2 gg - Prova a 15°C
Phalaris aquatica L.	C	m	20-30	--	7	21	Preref + 5°C per 2 gg - Prova a 20° - KNO3
Phalaris arundinacea L.	C	m	20-30	L	5	21	Preref + 5°C per 2 gg - KNO3
Phalaris canariensis L.	C	m	20 30	--	7	21	Preref + 5°C per 2 gg - Luce
Phalaris stenoptera Hack (= P. tuberosa L. var stenoptera (Hack.) Hitchc.)	C	m	20 30	L	7	21	Preref + 5°C per 2 gg - KNO3
Phaseolus angularis (Willd.) Wight	S	m	20-30	--	4	10	Prova a 25°C - Luce
Phaseolus coccineus L.	S	e	20	--	5	9	Preimbibizione per 24 h a + 25°C - Prova a 20-30°C - Luce
Phaseolus lunatus L., inc. P. Limensis Macfad	S	e	20-30	--	5	9	Preimbibizione per 24 h a + 25°C - Luce
Phaseolus mungo L.	S	m	20	--	4	7	Prova a 20 30°C - Luce
Phaseolus radiatus L. (=P. aureus Roxb.)	S	m	20-30	--	3	7	Luce
Phaseolus vulgaris L.	S	m	20	--	5	9	Prova a 25°C - Luce
Phleum bertolonii DC	C	s	20-30	L	5	10	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Phleum pratense L.	C	s	20-30	L	5	10	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Physalis pubescens L.	C	m	20-30	L	7	28	KNO3
Pimpinella anisum L.	C	s	20-30	--	7	21	Luce diffusa
Pisum sativum L. (varietà diverse)	S	m	20	--	5	8	Luce diffusa
Poa annua L.	C	s	15-25	L	7	21	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3 - Prova a 20-30°C
Poa bulbosa L.	C	s	15-25	L	10	35	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3 - Prova a + 10°C
Poa compressa L.	C	s	15-30	L	10	28	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Poa nemoralis L.	C	s	20-30	L	10	28	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Poa palustris L.	C	s	20-30	L	10	28	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3
Poa pratensis L.	C	s	15-25	L	10	28	Preref + 5°C per 4-5 gg - KNO3 - Prova a 20 30°C

Segue: Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Poa trivialis L.	C	s	15-25	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg - KNO3 - Prova a 20-30°C
Raphanus sativus L.	C	m	20	--	4	10	Preref. + 5°C per 2 gg - S - Luce
Rheum rhaponticum L.	C	e	20-30	L	7	21	----
Ricinus communis L.	S	e	20-30	--	7	14	Prova a 25°C - TC - Luce
Rosmarinus officinalis L.	C	s	20-30	L	7	28	Preref. + 5°C per 3-4 gg - Prova a 10-30°C - KNO3
Rumex acetosa L.	C	m	20-30	L	3	14	Preref. + 5°C per 2 gg
Ruta graveolens L.	TC	m	20	L	7	28	Preref. + 5°C per 3-4 gg - Prova a 15°C
Salsola soda L.	S	m	20	--	7	21	Luce
Salvia officinalis L.	C	s	20-30	--	7	21	Preref. + 10°C per 2 gg
Sanguisorba minor Scop.	TC	m	20	--	7	21	Prova a 15°C
Satureja hortensis L.	C	m	20-30	--	5	21	----
Scorzonera hispanica L.	TC	m	20	--	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg
Secale cereale L.	S	m	20	L	4	7	Preref. + 5°C per 2 gg - KNO3 - Prova a 15°C - GA3 Preessiccamento - TC
Sesamum indicum L.	C	m	20-30	--	3	6	----
Setaria italica (L.) P. Beauv.	TC	m	20-30	--	4	10	----
Sinapis alba L.	C	m	20	--	3	7	Preref. + 5°C per 2 gg
Solanum melongena L.	C	m	20-30	L	7	14	Preref. + 10°C per 3 gg - KNO3
Sorghum almum Parodi	C	s	20-30	--	5	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg - al 10 giorno tagliare l'estremità distale dei semi non germinati - TC
Sorghum bicolor (L.) Moench (= S. vulgare Pers.) (varietà diverse)	C	s	20-30	--	4	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg TC
Sorghum halepense (L.) Pers.	C	m	20-30	L	7	35	Preref. + 5°C per 4-5 gg TC -KNO3
Sorghum sudanense (Piper) Stapf	C	m	20-30	--	4	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg TC
Spinacia oleracea L.	C	s	15	--	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg TC
Taraxacum officinale Wigg.	C	m	20	--	7	21	----
Tetragonia tetragonoides (Pall.) Kuntze (= T. expansa Thunb. ex Murr.)	SS	s	20-30	--	5	35	Prelavaggio in H2O a 28°C per 6 h - Prova a 15°C in CP rimuovendo la polpa
Thymus vulgaris L.	C	s	20	--	7	21	----
Tragopogon porrifolius L.	TC	m	20	--	5	10	Preref. + 5°C per 4-5 gg
Trifolium alexandrinum L.	C	m	20	--	3	7	Prova a 15°C - Luce
Trifolium campestre Schreb.	C	s	20	--	4	14	Prova a 15°C - Luce
Trifolium dubium Sibth.	C	s	20	--	5	14	Preref. + 10°C per 2 gg Prova a + 10°C o + 15°C - Luce
Trifolium fragiferum L.	C	s	20	--	3	7	Prova a 15°C - Luce
Trifolium hybridum L.	C	s	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg Prova a 15°C - Luce

Segue: Allegato II-A

CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE

A. SPECIE ERBACEE (Nome botanico)	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Trattamenti speciali
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Trifolium incarnatum L.	C	s	20	--	4	7	Preref. + 10°C per 2 gg. Prova a 15°C - Luce
Trifolium pratense L.	C	m	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. Prova a 15°C - Luce
Trifolium repens L.	C	s	20	--	4	10	Preref. + 10°C per 2 gg. Prova a 15°C - Luce
Trifolium resupinatum L.	C	m	20	--	3	7	Prova a 15°C - Luce
Trifolium squarrosum L.	C	m	20	--	4	14	Preref. + 10°C per 4-5 gg. Prova a 15°C - Luce
Trifolium subterraneum L.	C	m	15	--	4	14	Al buio
Trigonella foenum graecum L.	C	m	20	--	5	14	----
Trisetum flavescens (L.) P. Beauv.	C	s	20-30	L	7	21	Preref. + 5°C per 4-5 gg.
Triticosecale Wittm.	C	m	20	--	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. GA3 - Luce - S
Triticum aestivum L. emed. Fiori et Paoletti	C	e	20	--	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. GA3 - Luce
Triticum durum Desf.	C	m	20	--	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. GA3 - Luce - S
Triticum spelta L.	S	m	20	--	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. GA3 - Luce
Triticum turgidum L.	S	m	20	--	4	8	Preref. + 5°C per 2 gg. GA3 - Luce
Valeriana officinalis L.	C	s	20	--	7	21	Preref. + 10°C per 4 gg. - Prova a 15°C - TC
Valerianella locusta (L.) Laterrade (= V. olitoria L. Poll.)	C	s	20	--	7	28	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prova a 15°C - TC
Vicia ervilia (L.) Willd.	S	m	20	--	5	8	Luce
Vicia faba L.	S	m	20	--	4	14	Preref. + 5°C per 2 gg. - Prelavaggio per 24 ore - Luce
Vicia narbonensis L.	S	m	20	--	5	8	Luce
Vicia pannonica Crantz	C	m	20	--	5	10	Luce - S
Vicia sativa L., incluso V. angustifolia L.	C	m	20	--	5	14	Luce - S
Vicia villosa sativa Roth., incluso V. dasycarpa Ten.	C	m	20	--	5	14	Luce - S
Vigna unguiculata (L.) Walpers (incl. V. Sinensis (L.) Savi ex Hassk.; Dolichos biflorus (L.)	S	m	20-30	--	5	8	Prova a 25°C - Luce
Zea mays L. (varietà diverse)	S	e	20-30	--	4	7	Prova a 25°C - Luce

Colonna 1 - Per i nomi volgari vedi colonna 1, allegato I-A.

Colonna 2 - La lettera C significa: semi su carta da filtro; TC: semi tra due carte da filtro; CP: semi in carta da filtro pieghettata; S: semi in sabbia; SS: semi su sabbia.
Le caratteristiche dei substrati e dei germinatoi sono precisate nelle sezioni 5.3.1., 5.5.1. e 11.5.2.

Colonna 3 - La lettera "e" significa che occorre dare al substrato il grado di umidità elevato, "m" il grado medio, "s" quello scarso, come definiti nella sezione 5.5.1.

Colonna 4 - Un solo numero significa costanza di temperature, due numeri separati da una lineetta alternanza giornaliera di temperatura (8 ore per la più elevata, 16 ore per la più bassa). Vedi sezione 5.5.1.

Colonna 5 - La lettera "L" significa che la luce è necessaria (250-500 lux per i semi di specie erbacee, 750-1250 lux per quelli di specie arboree e arbustive, per un periodo approssimativo di 8 ore giornaliere). Vedi sezione 5.5.1.

Colonna 6 - Le cifre indicano il numero di giorni, a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione (sezione 5.5.2.) in cui deve essere eseguita la prima conta.

Colonna 7 - Le cifre indicano il numero di giorni a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione e di post prerefrigerazione (sezione 5.5.3.) in cui deve essere eseguita la conta finale; ovvero indicano il numero di giorni di durata della prova.
In determinati casi la conta finale può essere eseguita con un ritardo di 7 giorni (vedi sezione 5.5.3.).

Colonna 8 - In questa colonna si richiamano i trattamenti speciali che possono essere adottati per favorire la germinazione dei semi di alcune specie o gruppi di specie affetti da dormienza. Vedi sezione 5.5.2.

Allegato I-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Abies alba Mill. (Abete bianco)	30-60	1.000	240	120
Abies cephalonica Loud. (Abete greco)	40-80	1.000	360	180
Abies nordmanniana (Steven) Spach. (Abete del Caucaso)	45-90	1.000	320	160
Abies pinsapo Boiss. (Abete di Spagna)	45-90	1.000	320	160
Acacia spp. (Acacie)	10-20	1.000	70	35
Acer campestre L. (Acero campestre)	50-100	1.000	200	100
Acer negundo L. (Acero americano)	30-60	1.000	200	100
Acer opalus Mill. (Acero fico)	60-140	1.000	200	100
Acer platanoides L. (Acero riccio)	100-400	1.000	900	450
Acer pseudoplatanus L. (Acero montano)	60-180	1.000	400	200
Aesculus hippocastanum L. (Ippocastano)	4.000-30.000	5.000	semi 500	semi 500
Ailanthus glandulosa Desf. (Ailanto)	20-35	1.000	160	80
Alnus cordata (Lois.) Duby (Ontano napoletano)	2-3	1.000	25	6
Alnus glutinosa (L.) Gaertn (Ontano nero)	0,7-1,5	1.000	25	4
Alnus incana (L.) Moench. (Ontano bianco)	0,5-1	1.000	15	2
Amorpha fruticosa L. (Falso indaco)	6-12	1.000	50	12,5
Betula pendula Roth (Betulla)	0,1-0,3	1.000	15	0,5
Carpinus betulus L. (Carpino bianco)	30-60	1.000	500	250
Castanea sativa Mill (Castagno)	5.000-15.000	5.000	semi 500	semi 500
Catalpa spp. (Catalpe)	10-45	1.000	120	60
Cedrus atlantica (Endl.) Manetti ex Carriere (Cedro dell'Atlante)	50-90	1.000	400	200
Cedrus deodara (D. Don) G. Don (Cedro dell'Himalaia)	80-200	1.000	600	300
Cedrus libani A. Rich (Cedro del Libano)	60-150	1.000	400	200
Celtis australis L. (Bagolaro)	100-350	1.000	500	250
Chamaecyparis lawsoniana (A Murray) Parl (Cipresso di Lawson)	1-3	1.000 1.000	20	6
Chamaecyparis thyoides (L.) B.S.P.	0,8-1	1.000	10	3
Cornus mas L. (Corniolo)	150-300	1.000	800	400
Cornus sanguinea L.	60	1.000	300	150
Corylus avellana L. (Nocciolo)	800-3.500	5.000	1.000	500
Cotoneaster spp. (Cotognastri)	8	1.000	40	20

Segue: Allegato I-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B. SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Crataegus monogyna Jacq. (Biancospino)	40-70	1.000	280	140
Cryptomeria japonica (L.f.) D. Don (Crittomeria)	1,5-4	1.000	25	10
Cupressus arizonica E. Greene (Cipresso dell'Arizona)	7-12	1.000	60	30
Cupressus macrocarpa Hartw. (Cipresso di Monterey)	4-9	1.000	40	20
Cupressus sempervires L. (Cipresso comune)	5-11	1.000	40	20
Cytisus scoparius (L.) Link. (Ginestra dei carbonai)	5-10	1.000	40	20
Elaeagnus angustifolia L. (Eleagno)	90	1.000	800	400
Eucalyptus globulus Labill. (Eucalitto globolo)	2,5-5	1.000	60	20
Eucalyptus spp. a semi piccolissimi (Eucalitti)	0,2-0,5	1.000	5	0,5
Euonymus europaea L. (Evonimo)	35-50	1.000	200	100
Fagus sylvatica L. (Faggio)	150-300	1.000	1.000	500
Fraxinus excelsior L. (Frassino maggiore)	40-120	1.000	400	200
Fraxinus ornus L. (Orniello)	20-35	1.000	200	100
Genista aetnensis DC. (Ginestra dell'Etna)	6-12	1.000	50	25
Gleditsia triacanthos L. (Spino di Giuda)	120-260	1.000	800	400
Juniperus communis (Ginepro comune)	--	1.000	300	150
Juniperus scopulorum Sarg.	--	1.000	70	35
Juniperus virginiana L. (Ginepro di Virginia)	--	1.000	100	50
Laburnum alpinum (Mill.) Bercht. et J.S. Presl. (Citiso alpino)	20-30	1.000	140	70
Laburnum anagyroides Medik (Maggiociondolo)	20-35	1.000	140	70
Larix decidua Mill. (Larice europeo)	3-10	1.000	25	10
Larix X eurolepis A. Henry (Larice euro-giapponese)	3-9	1.000	25	10
Larix leptolepis (Sieb. et Zucc.) Sieb. ex Gord. (Larice giapponese)	3-8	1.000	25	10
Libocedrus decurrens Torr. (Libocedro)	16-70	1.000	160	80
Ligustrum vulgare L. (Ligustro)	25	1.000	100	50
Liriodendron tulipifera L. (Liriodendro)	35-75	1.000	180	90
Malus spp. (Meli)	15-70	1.000	50	25
Morus spp. (Gelsi)	1-4	1.000	20	5
Ostrya carpinifolia Scop. (Carpino nero)	3-10	1.000	50	25

Segue: Allegato I-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Picea abies (L.) Karst. (Abete rosso)	4-10	1 000	40	20
Picea engelmannii C Parry ex Engelm (Picea di Engelmann)	2-7	1.000	25	9
Picea pungens Engelm (Picea pungente)	2-6	1.000	30	15
Picea sitchensis (Bong) Carr. (Picea di Sikta)	1-3	1 000	25	6
Pinus brutia Ten (Pino bruzio)	30-70	1 000	200	100
Pinus canariensis C. Smith (Pino delle Canarie)	90-130	1.000	60	30
Pinus cembra L. (Pino cembro)	200-320	1.000	1.000	700
Pinus coulteri D Don	250-350	1.000	1.000	900
Pinus excelsa Wall (Pino eccelso)	30-60	1.000	200	100
Pinus halepensis Mill (Pino d'Aleppo)	10-20	1.000	100	50
Pinus heldreichii Christ.	15-25	1 000	120	60
Pinus jeffreyi Grev. et Balf.	90 200	1.000	600	300
Pinus koraiensis Sieb et Zucc	500-650	1 000	2 000	1.000
Pinus lambertiana Dougl	175-300	1 000	1.000	500
Pinus monticola Dougl ex D Don	15-30	1 000	90	45
Pinus mugo Turra (Pino montano)	4-10	1.000	40	20
Pinus nigra Arnold (Pino nero e laricio)	10-30	1 000	100	50
Pinus parviflora Sieb et Zucc	110-150	1 000	500	250
Pinus peuce Griseb	30-45	1.000	240	120
Pinus pinaster Ait (Pino marittimo)	30-70	1 000	240	120
Pinus pinea L. (Pino domestico)	500-1.100	1.000	1.000	1.000
Pinus pumila (Pallas) Reg	..	1 000	40	20
Pinus radiata D Don (Pino insigne)	20-35	1 000	160	80
Pinus strobus L (Pino strobo)	8-24	1.000	90	45
Pinus sylvestris L. (Pino silvestre)	4-9	1.000	40	20
Platanus spp (Platani)	2-5	1 000	25	6
Populus spp (Pioppi)	0,01-2,20	1 000	5	2
Prunus avium (L.) (Ciliegio)	100-300	1 000	900	450
Pseudotsuga menziesii (Mirbel) Franco (Abete di Douglas)	6 20	1 000	60	30
Pyrus spp (Peri)	15-45	1 000	180	90

Segue Allegato I-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE (Nome botanico e nome volgare)	Peso medio di 1000 semi g	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Quercus spp (Querce)	1 500-8.000	5 000	semi 500	semi 500
Robinia pseudoacacia L. (Robinia)	12-28	1 000	100	50
Rosa spp. (Rose)	2-9	1.000	50	25
Salix spp. (Salici)	0,10-0,30	1.000	5	2
Sequoia sempervirens Endl (Sequoia sempreverde)	1,5-8	1 000	25	12
Sophora japonica L. (Sofora)	90-180	1 000	500	200
Sorbus aucuparia L (Sorbo degli uccellatori)	2-5	1 000	25	10
Spartium junceum L (Ginestra di Spagna)	10-15	1 000	40	20
Syringa vulgaris L (Lilla)	3-9	1 000	30	15
Taxodium distichum (L) Rich (Cipresso calvo)	50-200	1 000	500	250
Taxus baccata L (Tasso)	50-80	1 000	320	160
Thuja occidentalis L (Tuia occidentale)	0 5-2,5	1 000	25	4
Thuja orientalis L. (Tuia orientale)	10 20	1 000	120	60
Thuja plicata Donn ex D Don	0,5-2	1 000	10	3
Tilia cordata Mill (Tiglio selvatico)	25-50	1 000	180	90
Tilia platyphillos Scop (Tiglio nostrale)	100-150	1 000	500	250
Tilia tomentosa Moench (Tiglio argentato)	70-110	1 000	300	150
Ulmus spp (Olmi)	3-15	1 000	30	15

Allegato II-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B SPECIE ARBOREEE E ARBUSTIVE	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Condizioni particolari	Prova al Tetrazolo
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Abies spp.	C	m	20-30	L	7	28	Preref + 3-5°C per 21 gg.	+
Acacia spp.	C	m	20	L	7	21	Rimozione di 1 mmq di tegumento dalla parte opposta alla radichetta - Preimbibizione per 3 h.	
Acer spp.	C	m	20	--	7	28	Preref a 1-5°C per 2 mesi - Rimuovere il pericarpo	++
Aesculus hippocastanum	S	e	20-30	--	7	21	Immersione in acqua per 48 ore, successiva asportazione del terzo inferiore	
Ailanthus glandulosa	C	m	20-30	--	7	28	Rimozione completa del pericarpo dal seme secco (1 unità di g 0,05)	
Alnus spp.	C	m	20-30	L	7	28	-----	
Amorpha fruticosa	C	m	20-30	L	7	21	Per alcuni campioni è consigliabile rimuovere il legume secco ed asportare 1 mmq di tegumento dalla parte opposta alla radichetta	
Betula spp.	C	m	20-30	L	7	21	-----	
Carpinus betulus	S	e	20	--	14	42	Mettere in substrato umido a 20°C per 1 mese, successivamente a 3-5°C per 4 mesi	++
Castanea sativa	S	e	20-30	--	7	21	Immersione in acqua per 48 ore, successiva asportazione del terzo inferiore e rimozione del pericarpo	
Catalpa spp.	C	m	20-30	--	7	21	-----	
Cedrus spp.	C	m	20	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Celtis australis	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Chamaecyparis spp.	C	m	20-30	--	7	28	-----	
Chamaecyparis thyoides	C	m	20	L	7	28	Preref a 3-5°C per 90 gg.	++
Cornus mas	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Cornus sanguinea	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Corylus spp	S	e	20	--	28	70	Preref. a 3-5°C per 2 mesi previa asportazione del pericarpo	++
Cotoneaster spp	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Crataegus spp	S	e	20-30	--	7	28	Mettere in substrato umido a 25°C per 3 mesi, successivamente a 3-5°C per 9 mesi	++
Cryptomeria japonica	C	m	20-30	--	7	28	-----	
Cupressus arizonica	C	m	20-30	--	7	35	-----	
Cupressus macrocarpa	C	m	20-30	L	14	35	-----	
Cupressus sempervirens	C	m	20	L	7	28	-----	
Cytisus scoparius	C	m	20-30	--	7	28	Come Acacia spp	
Elaeagnus angustifolia	--		--	--	--	--	-----	+++
Eucalyptus globulus	C	m	25	L	7	28	-----	
Eucalyptus spp. (a semi piccoli)	C	m	20-30	--	7	21	-----	
Euonymus europaea	C	m	20-30	--	7	28	Preref. a 3-5°C per 45 gg.	++
Fagus sylvatica	C	m	4	--	--	--	La durata dell'analisi dipende dalla dormienza e in alcuni casi essa può richiedere anche 24 settimane	+

Segue: Allegato II-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B SPECIE ARBOREEE E ARBUSTIVE	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Condizioni particolari	Prova al Tetrazolo
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Fraxinus spp.	C	m	20-30	--	14	56	Mettere in substrato umido a 20°C per 2 mesi, successivamente a 3-5°C per 7 mesi	++
Genista aetnensis	C	m	20	--	7	28	Come Acacia spp	
Gleditsia triacanthos	C	m	20	--	14	35	Rimozione di 6-8 mmq di tegumento dalla parte opposta alla radichetta e successiva immersione in acqua per 4 ore a 30°C	
Juniperus communis	C	m	20	L	14	28	Preref a 3-5°C per 90 gg.	++
Juniperus scopulorum	C	m	15	--	14	42	Mettere in substrato umido a 20°C per 60 gg successivamente a 3-5°C per 40 gg.	++
Juniperus virginiana	C	m	15	--	14	28	Mettere in substrato umido a 20°C per 60 gg successivamente a 3-5°C per 45 gg.	++
Laburnum alpinum	C	m	20-30	--	7	28	Come Acacia spp.	
Laburnum anagyroides	C	m	20-30	--	7	14	Come Acacia spp.	
Larix decidua et eurolepis	C	m	20-30	L	7	21	-----	
Larix leptolepis	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Libocedrus decurrens	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 28 gg.	+
Ligustrum vulgare	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Liriodendron tulipifera	C	m	20-30	--	7	28	Preref. a 3-5°C per 60 gg.	++
Malus spp.	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Morus spp.	C	m	20-30	L	14	28	-----	
Ostrya carpinifolia	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Picea abies, engelmannii e pungens	C	m	20-30	L	7	21	-----	
Picea sitchensis	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Pinus brutia	C	m	20	L	7	28	-----	
Pinus canariensis e P. excelsa	C	m	20-30	L	7	28	-----	
Pinus cembra	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Pinus coulteri	S	e	20-30	--	7	28	Preref a 3-5°C per 60-90 gg.	++
Pinus halepensis	C	e	20	L	7	28	-----	
Pinus heldreichii	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 42 gg.	++
Pinus koraiensis	S	e	20-30	--	7	28	Mettere in substrato umido a 25°C per 2 mesi, successivamente a 3-5°C per 3 mesi	++
Pinus jeffreyi	C	m	20-30	--	7	28	Preref. a 3-5°C per 28 gg.	+
Pinus lambertiana	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 60-90 gg.	++
Pinus monticola	C	m	20-30	--	7	28	Preref. a 3-5°C per 60-90 gg.	++
Pinus mugo	C	m	20-30	L	7	21	-----	
Pinus nigra	C	m	20-30	L	7	14	-----	
Pinus parviflora	S	e	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 6-9 mesi	++
Pinus peuce	--	--	--	--	--	--	-----	+++
Pinus pumila	S	e	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 4 mesi	++
Pinus pinaster	C	m	20	L	7	35	Preref. a 3-5°C per 35 gg. nel caso di provenienze atlantiche - Luce non più di 8 ore al giorno	

Segue: Allegato II-B

SPECIE ARBOREE E ARBUSTIVE

B SPECIE ARBOREEE E ARBUSTIVE	Substrati	Umidità	Temperature °C	Luce	Prima conta giorni	Conta finale giorni	Condizioni particolari	Prova al Tetrazolo
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Pinus pinea	C	m	20	--	7	28	Immersione in acqua per 48 ore prima della prova di germinazione	
Pinus radiata	C	m	20-30	L	7	28	Preref. a 3-5°C per 7 gg.	
Pinus sylvestris	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 21 gg.	
Pinus strobus	C	m	20-30	L	7	21	Preref. a 3-5°C per 28 gg	+
Platanus spp	C	m	20-30	L	7	28	-----	
Populus spp	C	m	20-30	L	3	10	-----	
Prunus spp	S	e	20-30	--	7	28	Preref. a 3-5°C per 3-4 mesi	++
Pseudotsuga menziesii	C	m	20-30	L	7	21	Preref a 3-5°C per 21 gg	
Pyrus spp	S	e	20-30	--	7	28	Preref a 3-5°C per 3-4 mesi	++
Quercus spp	S	e	20	--	7	28	Immersione in acqua per 4-8 ore, successiva asportazione del terzo inferiore e rimozione del pericarpo	
Robinia pseudoacacia	C	m	20-30	L	7	14	Come Acacia spp	
Rosa spp	S	e	20	--	35	70	Preref per 12 mesi	++
Salix spp	C	m	20-30	L	7	14	-----	
Sequoia sempervirens	C	m	20-30	L	7	28	-----	
Sophora japonica	C	m	20	--	7	14	Come Gleditschia triacanthos	
Sorbus spp.	S	e	20-30	--	7	28	Preref. a 3-5°C per 4 mesi	++
Spartium junceum	C	m	20	--	7	14	Come Acacia spp	
Syringa vulgaris	C	m	20	--	7	21	-----	
Taxodium distichum	S	e	20-30	L	7	28	Preref a 3-5°C per 30 gg	+
Taxus spp	S	e	20-30	--	7	28	Preref a 3-5°C per 9 mesi	++
Thuja occidentalis	C	m	20-30	L	7	21	-----	
Thuja orientalis	C	m	20-30	--	7	21	-----	
Thuja plicata	C	m	20-30	L	7	28	-----	
Tilia spp	S	e	20-30	--	7	28	Preref a 3-5°C per 6-9 mesi	++
Ulmus spp (Olmi)	C	m	20-30	L	7	21	Rimozione del pericarpo	++

Colonna 1 - Per i nomi volgari e botanici vedi colonna 1, allegato I-B

Colonna 2 - La lettera C significa semi su carta da filtro, TC semi tra due carte da filtro, CP semi in carta da filtro pieghettata S semi in sabbia, SS semi su sabbia.
Le caratteristiche dei substrati e dei germinatoi sono precisate nelle sezioni 5 3 1., 5 5.1 e 11 6 2

Colonna 3 - La lettera "e" significa che occorre dare al substrato il grado di umidità elevato, "m" il grado medio, "s" quello scarso, come definiti nella sezione 5 5 1.

Colonna 4 - Un solo numero significa costanza di temperature, due numeri separati da una lineetta alternanza giornaliera di temperatura (8 ore per la più elevata, 16 ore per la più bassa). Vedi sezione 5.5.1

Colonna 5 - La lettera "L" significa che la luce è necessaria (250-500 lux per i semi di specie erbacee, 750-1250 lux per quelli di specie arboree e arbustive, per un periodo approssimativo di 8 ore giornaliere). Vedi sezione 5 5.1.

Colonna 6 - Le cifre indicano il numero di giorni, a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione (sezione 5.5 2.) in cui deve essere eseguita la prima conta.

Colonna 7 - Le cifre indicano il numero di giorni a partire da quello di semina ed esclusi quelli di prerefrigerazione e di post prerefrigerazione (sezione 5 5.3) in cui deve essere eseguita la conta finale, ovvero indicano il numero di giorni di durata della prova.
In determinati casi la conta finale può essere eseguita con un ritardo di 7 giorni (vedi sezione 5 5 3)

Colonna 8 - In questa colonna si richiamano i trattamenti speciali che possono essere adottati per favorire la germinazione dei semi di alcune specie o gruppi di specie affetti da dormienza. Vedi sezione 5.5 2

Colonna 9 - Con un asterisco (+) sono indicate quelle specie per le quali la prova al tetrazolo si esegue in sostituzione della prova di germinazione solo se viene richiesta una rapida determinazione della vitalità dei semi del campione.
Con due asterischi (++) sono indicate quelle specie per le quali la prova al tetrazolo è sempre preferibile alla prova di germinazione
Con tre asterischi (+++) sono indicate quelle specie per le quali è prevista la sola prova al tetrazolo

Allegato I - C

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Abutilon X hybridum hort.	5,000	40	10
Achillea clavennae L.	5,000	5	0.5
Achillea filipendulina Lam.	5,000	5	0.5
Achillea millefolium L.	5,000	5	0.5
Achillea ptarmica L.	5,000	5	0.5
Adonis vernalis L.	5,000	20	5
Agastache foeniculum O. Kuntze	5,000	10	2
Ageratum houstonianum Miller	5,000	5	0.5
Agrimonia eupatoria L.	5,000	200	50
Alcea rosea L.	5,000	80	20
Althaea X hybrida hort.	5,000	80	20
Althaea officinalis L.	5,000	80	20
Alyssum argenteum All.	5,000	10	3
Alyssum montanum L.	5,000	10	3
Alyssum saxatile L.	5,000	10	3
Amaranthus caudatus L.	5,000	10	2
Amaranthus hybridus L.	5,000	10	2
Amaranthus paniculatus L.	5,000	10	2
Amaranthus tricolor L.	5,000	10	2
Amberboa moschata L.	5,000	40	10
Ambrosina mexicana L.	5,000	10	2
Ammi majus L.	5,000	10	2
Ammobium alatum R.Br.	5,000	5	1
Anagallis arvensis L.	5,000	10	2
Anchusa azurea Miller	5,000	100	25
Anchusa capensis Thunb.	5,000	40	10
Anemone coronaria L.	5,000	10	3
Anemone silvestris L.	5,000	10	3
Angelica archangelica L.	5,000	40	10
Antirrhinum majus L.	5,000	5	0.5
Aquilegia alpina L.	5,000	20	4
Aquilegia canadensis L.	5,000	20	4
Aquilegia chrysantha A.Gray	5,000	20	4
Aquilegia X cultorum Bergmans	5,000	20	4
Aquilegia vulgaris L.	5,000	20	4
Arabis alpina L.	5,000	10	2
Arabis X arendsii Wehrh.	5,000	10	2
Arabis blepharophylla Hook. et Arn.	5,000	10	2
Arabis caucasica Willd. ex Schldl.	5,000	10	2
Arabis procurrens Waldst. et Kit.	5,000	10	2
Arabis scopoliana Boiss.	5,000	10	2
Aralia sieboldii hort	5,000	20	5
Arctotis stoechadifolia P.Bergius	5,000	20	4
Armeria maritima (Miller) Willd.	5,000	20	5
Artemisia absinthium L.	5,000	5	0.5
Artemisia dracunculus L.	5,000	5	0.5
Artemisia maritima L.	5,000	5	0.5
Artemisia vulgaris L.	5,000	5	0.5
Asparagus densiflorus (Kunth) Jessop	10,000	200	60
Asparagus plumosus Bak	10,000	200	50
Asparagus setaceus (Kunth) Jessop	10,000	200	50
Asparagus sprengeri Reg	10,000	200	50
Aster alpinus L.	5,000	20	5
Aster amellus L.	5,000	20	5
Aster dumosus L.	5,000	20	5
Aubrieta deltoidea (L.)	5,000	5	1
Begonia semperflorens hort.	5,000	5	0.1
Begonia X tuberhybrida Voss	5,000	5	0.1
Bellis perennis L.	5,000	5	0.5
Brachycome iberidifolia Benth.	5,000	5	0.3
Briza maxima L.	5,000	40	10
Browallia viscosa H.B.K.	5,000	5	0.5

Segue Allegato

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Brunnera macrophylla (Adams) I.M.Johnston	5,000	40	10
Calceolaria X herbeohybrida Voss	5,000	5	0.1
Calceolaria polyrrhiza Cav.	5,000	5	0.1
Calendula officinalis L.	5,000	80	20
Callistephus chinensis (L.) Nees	5,000	20	6
Campanula carpatica Jacq.	5,000	5	0.2
Campanula fragilis Cyr.	5,000	5	1
Campanula garganica Ten.	5,000	5	0.5
Campanula glomerata L.	5,000	5	0.2
Campanula lactiflora M.Bieb.	5,000	5	1
Campanula medium L.	5,000	5	0.6
Campanula persicifolia L.	5,000	5	0.2
Campanula portenschlagiana Schultes	5,000	5	0.5
Campanula pyramidalis L.	5,000	5	1
Campanula rapunculus L.	5,000	5	1
Carthamus tinctorius L.	5,000	5	0.5
Castalis tragus (Aiton) Norl.	5,000	40	10
Celosia argentea L.	5,000	10	2
Centaurea americana Nutt.	5,000	100	35
Centaurea cyanus L.	5,000	40	10
Centaurea dealbata Willd.	5,000	40	10
Centaurea gymnocarpa Moris et de Not.	5,000	40	10
Centaurea imperialis Hausskn. ex Bornm.,non hort.	5,000	40	10
Centaurea macrocephala Puschkin ex Willd.	5,000	40	10
Centaurea montana L.	5,000	40	10
Centaurea ragusina L.	5,000	40	10
Cerastium tomentosum L.	5,000	10	2
Cereus s.p.p.	5,000	5	0.5
Cheiranthus cheiri L.	5,000	10	3
Chelidonium majus L.	5,000	5	1
Chrysanthemum carinatum Schousboe	5,000	30	8
Chrysanthemum coronarium L.	5,000	30	8
Chrysanthemum multicaule Desf.	5,000	30	8
Chrysanthemum nivellei Braun-Blanquet et Maire	5,000	30	8
Chrysanthemum segetum L.	5,000	30	8
Clarkia amoena (Lehm.) Nelson et J.F.Macbr	5,000	5	1
Clarkia pulchella Pursh	5,000	5	1
Clarkia unguiculata Lindley	5,000	5	1
Cleome hassleriana Chodet	5,000	20	5
Cnicus benedictus L.	5,000	300	75
Cobaea scandens Cav.	5,000	200	50
Coix lacrima-jobi L.	5,000	600	150
Coleus blumei Benth.	5,000	10	2
Consolida ambigua (L.) P.Ball et Heyw.	5,000	30	8
Consolida regalis Grey	5,000	30	8
Convolvulus tricolor L.	5,000	100	25
Coreopsis cardaminifolia (DC.) Nutt.	5,000	5	1
Coreopsis coronata L.	5,000	20	5
Coreopsis drummondi (Don) Torrey et Gray	5,000	20	5
Coreopsis lanceolata L.	5,000	20	5
Coreopsis maritima (Nutt.) Hook. f.	5,000	20	5
Coreopsis tinctoria Nutt.	5,000	5	1
Cosmos bipinnatus Cav.	5,000	80	20
Cosmos sulphureus Cav.	5,000	80	20
Craspedia globosa Bentham	5,000	20	5
Cyclamen persicum Miller	5,000	100	30

Segue Allegato

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Cymbalaria muralis P.Gaertn., Meyer et Scherb.	5,000	5	0,2
Cynoglossum amabile Stapf et J.R.Drumm.	5,000	40	10
Dahlia pinnata Cav.	5,000	80	20
Datura metel L.	5,000	100	25
Datura stramonium L.	5,000	100	25
Delphinium X belladonna hort.	5,000	20	4
Delphinium bellamosum L.	5,000	20	4
Delphinium cardinale Hook.	5,000	20	4
Delphinium X cultorum Voss	5,000	20	4
Delphinium formosum Boiss. et A.Huet	5,000	20	4
Delphinium grandiflorum L.	5,000	20	4
Dendrathema indicum (L.) Desm.	5,000	30	8
Dianthus barbatus L.	5,000	10	3
Dianthus caryophyllus L.	5,000	20	5
Dianthus chinensis L.	5,000	10	3
Dianthus deltoides L.	5,000	20	5
Dianthus plumarius L.	5,000	20	5
Digitalis lanata Ehrh.	5,000	5	1
Digitalis purpurea L.	5,000	5	0.2
Dimorphotheca pluvialis (L.) Moench	5,000	40	10
Dizygotheca elegantissima (Veitch) R.Viguier et Guill.	5,000	20	6
Doronicum orientale Hoffm.	5,000	10	2
Dorotheanthus bellidiformis (Burm. f.) N.E. Br.	5,000	5	0,5
Echinacea purpurea (L.) Moench	5,000	20	5
Echinocactus s.p.p.	5,000	5	0,5
Echinops ritro L.	5,000	8	20
Echium fastuosum Jacq.	5,000	40	10
Echium plantagineum L.	5,000	40	10
Erigeron speciosus (Lindley) DC.	5,000	5	0.5
Eryngium planum L.	5,000	5	0,5
Erysimum X allionii hort.	5,000	10	3
Eschscholzia californica Cham.	5,000	20	5
Euphorbia variegata Pursh	5,000	20	5
Euphorbia marginata Pursh	5.000	20	5
Fatsia japonica (Thunb. ex Murray) Decne. et Planchon	5,000	60	15
Freesia refracta (Jacq.) Klatt	5,000	100	25
Gaillardia aristata Pursh	5,000	30	8
Gaillardia pulchella Foug.	5,000	20	6
Galega officinalis L.	5,000	80	20
Galeopsis segetum Necker	5,000	20	4
Gazania rigens (L.) Gaertn.	5,000	20	5
Gazania splendens hort.	5,000	20	5
Gentiana acaulis L.	5,000	5	0.7
Geranium hybridum hort.	5,000	40	10
Gerbera hybrida Bol. L.	5,000	40	10
Gerbera jamesonij Bolus ex Hook f.	5,000	40	10
Geum X borisij hort.	5,000	20	5
Geum chiloense Balbis	5,000	20	5
Gilia tricolor Benth.	5,000	5	1
Gomphrena globosa L.	5,000	40	10
Goniolimon tataricum (L.) Bois.	5,000	20	5
Grevillea robusta Cunn. ex R.Br.	5,000	80	20
Gypsophila elegans M.Bieb	5,000	10	2
Gypsophila paniculata L.	5,000	10	2
Gypsophila repens L.	5,000	10	2
Helenium autumnale L.	5,000	5	0.9
Helianthemum nummularium (L.) Miller	5,000	20	5
Helianthus debilis Nutt.	10,000	150	40
Helichrysum bracteatum (Vent.) Andrews	5,000	10	2

Segue Allegato

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Heliopsis helianthoides (L.) Sweet	5,000	40	10
Heliotropium arborescens (L.)	5,000	5	1
Helipterum humboldtianum (Gaudich.) DC.	5,000	30	8
Helipterum manglesii (Lindley) F.Mueller	5,000	30	8
Helipterum roseum (Hook.) Benth.	5,000	30	8
Hesperis matronalis L.	5,000	20	5
Heuchera sanguinea Engelm.	5,000	5	0.1
Hibiscus trionum L.	5,000	40	10
Hippeastrum hybridum hort.	5,000	80	20
Hypericum perforatum L.	5,000	5	0.3
Hyssopus officinalis L.	5,000	10	3
Iberis amara L.	5,000	20	6
Iberis gibraltarica L.	5,000	10	3
Iberis sempervirens L.	5,000	10	3
Iberis umbellata L.	5,000	10	3
Impatiens balsamina L.	5,000	100	25
Impatiens walleriana Hook. f.	5,000	10	2
Inula helenium L.	5,000	20	4
Ipomea alba L.	10,000	400	100
Ipomea tricolor Cav.	10,000	400	100
Kalanchoe blossfeldiana Poelln.	5,000	5	0.1
Kalanchoe crenata (Andr.) Haw.	5,000	5	0.1
Kalanchoe globulifera Perrier	5,000	5	0.1
Kniphofia uvaria (L.) Hook	5,000	10	3
Kochia scoparia (L.) Schrader	5,000	10	3
Lathyrus latifolius L.	10,000	400	100
Lathyrus odoratus L.	10,000	600	150
Lavandula angustifolia Miller	5,000	10	2
Lavatera trimestris L.	5,000	40	10
Legousia speculum-veneris (L.) Chaix	5,000	5	1
Leontopodium alpinum Cass.	5,000	5	0.1
Leonurus cardiaca L.	5,000	10	2
Lepidium ruderale L.	5,000	10	2
Leucanthemum maxicum (Ram.) DC.	5,000	20	5
Leucanthemum vulgare Lam.	5,000	20	5
Levisticum officinale Koch	5,000	30	8
Liatris pycnostachya Michaux	5,000	30	8
Liatris spicata (L.) Willd.	5,000	30	8
Lilium x formolongo Hort	5,000	40	10
Lilium regale E. Wilson	5,000	40	10
Limonium aureum (L.) Hill ex O. Kuntze	5,000	20	5
Limonium bellidifolium (Gouan) Dumort	5,000	20	5
Limonium bonduellei (Lestib. f.) Kuntze	5,000	200	50
Limonium latifolium (Smith) Kuntze	5,000	20	5
Limonium perezii Hubbard ex L. N.Bailey	5,000	20	5
Limonium sinuatum (L.) Miller	5,000	200	50
Linaria bipartita (Vent.) Wild.	5,000	5	0.2
Linaria maroccana Hook. f.	5,000	5	0.4
Linaria vulgaris Miller	5,000	5	0.2
Linum flavum L.	5,000	20	5
Linum grandiflorum Desf.	5,000	40	10
Linum narbonense L.	5,000	20	5
Linum perenne L.	5,000	20	5
Lithops s.p.p.	5,000	10	0,5
Lobelia cardinalis L.	5,000	5	0.1
Lobelia erinus L.	5,000	5	0.2
Lobelia fulgens Willd.	5,000	5	0.2
Lobularia maritima (L.) Desv.	5,000	5	1
Lonas annua (L.) Vines et Druce	5,000	5	0.6
Lunaria annua L.	5,000	80	20
Lupinus hartwegii Lindley	10,000	200	60
Lupinus hybridus Hort.	10,000	200	60

Segue Allegato

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Lupinus nanus Douglas	10,000	200	60
Lupinus polyphyllus Lindley	10,000	200	60
Lychnis chalcedonica L.	5,000	5	1
Lychnis coronaria (L.) Desr.	5,000	20	5
Malcolmia maritima (L.) R.Br.	5,000	10	3
Malope trifida Cav.	5,000	20	5
Mamillaria s.p.p.	5,000	10	0.5
Marrubium vulgare L.	5,000	10	2
Matricaria maritima L.	5,000	5	0.5
Matricaria perforata Merat	5,000	5	0.5
Matricaria recutita L.	5,000	5	0.5
Matthiola incana (L.) R.Br.	5,000	20	4
Matthiola longipetala (Vent.) DC.	5,000	10	2
Melissa officinalis L.	5,000	10	2
Mentha X piperita L.	5,000	5	0.5
Mimosa pudica L.	5,000	40	10
Mimulus cardinalis Douglas ex Benth.	5,000	5	0.2
Mimulus cupreus hort. ex Dombr.	5,000	5	0.2
Mimulus X hybridus hort. ex Siebert et Voss	5,000	5	0.2
Mimulus luteus L.	5,000	5	0.2
Mirabilis jalapa L.	10,000	800	200
Molucella laevis L.	5,000	100	25
Myosotis hybrida hort.	5,000	10	2
Myosotis scorpioides L.	5,000	10	2
Myosotis sylvatica Ehrh. ex Hoffm.	5,000	10	2
Nemesia strumosa Benth.	5,000	5	1
Nemesia versicolor E.Meyer ex Benth.	5,000	5	1
Nemophila aurita Lindley	5,000	20	5
Nemophila maculata Benth. ex Lindley	5,000	20	5
Nemophila menziesii Hook. et Arn.	5,000	20	5
Nepeta cataria L.	5,000	10	2
Nicotiana alata Link et Otto	5,000	5	0.2
Nicotiana X sanderae Hort. Sander ex Will. Watson	5,000	5	0.2
Nicotiana suaveolens Lehm.	5,000	5	0.5
Nierenbergia hippomanica Miers	5,000	5	0.5
Nigella damascena L.	5,000	20	6
Nigella hispanica L.	5,000	20	6
Nigella sativa L.	5,000	40	10
Nothocactus s.p.p.	5,000	10	1
Oenothera missouriensis Sims	5,000	40	10
Osteospermum ecklonis (DC.) Norl.	5,000	40	10
Papaver alpinum L.	5,000	5	0.5
Papaver glaucum Boiss. et Hausskn.	5,000	5	0.5
Papaver nudicaule L.	5,000	5	0.5
Papaver orientale L.	5,000	5	1
Papaver rhoeas L.	5,000	5	0.5
Papaver somniferum L.	5,000	5	0.5
Pelargonium zonale hort.	5,000	80	20
Penstemon barbatus (Cav.) Roth	5,000	10	2
Penstemon hartwegii Benth.	5,000	10	2
Penstemon hybridus Grondl. et Rumpl.	5,000	10	2
Perilla frutescens (L.) Britton	5,000	10	3
Petunia X hybrida Vilm.	5,000	5	0.2
Phacelia campanularia A.Gray	5,000	10	2
Pharbitis purpurea (Roth.) Bojer	10,000	400	100
Phlox drummondii Hook.	5,000	20	5
Phlox paniculata L.	5,000	20	5
Phlox perennis L.	5,000	10	5
Phlox subulata L.	5,000	20	5
Physalis alkekengi L.	5,000	20	4
Pimpinella major (L.) Hudson	5,000	20	5

Segue Allegato

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Pimpinella saxifraga L.	5,000	20	5
Plantago lanceolata L.	5,000	20	6
Portulaca grandiflora Hook.	5,000	5	0.3
Primula acaulis L.	5,000	5	1
Primula auricula L.	5,000	5	1
Primula denticulata Smith	5,000	5	0.5
Primula elatior (L.) Hill	5,000	10	2
Primula japonica A.Gray	5,000	5	1
Primula X kewensis Hort.	5,000	5	0.5
Primula malacoides Franchet	5,000	5	0.5
Primula obconica Hance	5,000	5	0.5
Primula praenitens Ker-Gawl.	5,000	5	1
Primula veris L.	5,000	5	1
Primula vulgaris Hudson	5,000	5	1
Psylliostachys suworowii (Regel) Roshk.	5,000	20	5
Pulsatilla vulgaris Miller	5,000	10	3
Quamoclit vulgaris Choisy	10,000	200	50
Ranunculus asiaticus L.	5,000	5	1
Reseda odorata L.	5,000	10	3
Rheum palmatum L.	5,000	100	30
Rudbeckia fulgida Aiton	5,000	10	2
Rudbeckia hirta L.	5,000	5	1
Ruta graveolens L.	5,000	20	6
Saintpaulia ionantha H.Wendl	5,000	5	0.1
Salpiglossis sinuata Ruiz Lopez et Pavon	5,000	5	1
Salvia coccinea Buc hoz ex Etlinger	5,000	30	8
Salvia farinacea Benth.	5,000	20	5
Salvia officinalis L.	5,000	30	8
Salvia patens Cav.	5,000	30	8
Salvia pratensis L.	5,000	30	8
Salvia sclarea L.	5,000	80	20
Salvia splendens Buc hoz ex Etlinger	5,000	30	8
Salvia viridis L.	5,000	20	5
Sanvitalia procumbens Lam.	5,000	10	2
Saponaria calabrica Guss.	5,000	20	5
Saponaria ocymoides L.	5,000	20	5
Saponaria officinalis L.	5,000	20	5
Scabiosa atropurpurea L.	5,000	60	15
Scabiosa caucasica M.Bieb.	5,000	80	20
Schizanthus pinnatus Ruiz Lopez et Pavon	5,000	10	2
Senecio bicolor (Willd.) Tod.	5,000	5	0.5
Senecio cruentus (Masson ex L'Her.) DC.	5,000	5	0.5
Senecio elegans L.	5,000	5	0.5
Silene pendula L.	5,000	10	2
Silybum marianum (L.) Gaertn.	5,000	200	50
Sinningia speciosa (Lodd.) Hiern	5,000	5	0.2
Solanum capsicastrum Link ex Schauer	5,000	20	5
Solanum giganteum Jacq.	5,000	20	5
Solanum lacinatum Aiton	5,000	20	5
Solanum marginatum L.f.	5,000	20	5
Stachys grandiflora (Steven ex Willd.) Benth.	5,000	20	5
Tagetes erecta L.	5,000	40	10
Tagetes patula L.	5,000	40	10
Tagetes tenuifolia Cav.	5,000	20	5
Tanacetum achilleifolium (M.Bieb.) Schultz Bip.	5,000	30	8
Tanacetum cinerariifolium (Trev.) Schultz Bip.	5,000	10	3
Tanacetum coccineum (willd.) Grierson	5,000	30	8
Tanacetum parthenium (L.) Schultz Bip.	5,000	20	5

Segue Allegato

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	Peso massimo del lotto Kg	Peso minimo del campione medio finale di prelevamento g	Peso minimo del campione d'analisi per la determinazione della purezza g
(1)	(2)	(3)	(4)
Teloxys aristata (L.) Moq.	5,000	10	1
Thunbergia alata Bojer ex Sims	5,000	200	50
Thymus serpyllum L.	5,000	5	0.5
Torenia fournieri Linden	5,000	5	0.2
Tropaeolum majus L.	10,000	1,000	350
Tropaeolum peltophorum Benth.	10,000	1,000	350
Tropaeolum peregrinum L.	10,000	1,000	350
Vaccaria hispanica (Miller) Rauschert	5,000	20	5
Valeriana officinalis L.	5,000	10	2
Verbascum densiflorum Bertol.	5,000	5	0.3
Verbascum phlomoides L.	5,000	5	0.5
Verbascum thapsus L.	5,000	5	0.5
Verbena bonariensis L.	5,000	20	6
Verbena canadensis (L.) Britton	5,000	20	6
Verbena hastata L.	5,000	20	6
Verbena X hybrida Voss	5,000	20	6
Verbena rigida Sprengel	5,000	10	2
Veronica longifolia L.	5,000	10	2
Veronica virginica L.	5,000	10	2
Vinca minor L.	5,000	20	5
Viola cornuta L.	5,000	10	3
Viola odorata L.	5,000	10	3
Viola tricolor L.	5,000	10	3
Xeranthemum annuum L.	5,000	10	3
Zinnia elegans Jacq.	5,000	80	20
Zinnia haageana Regel	5,000	20	6

Allegato II - C

SPECIE FLORICOLE E OFFICINALI

SPECIE (Nome Botanico)	CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE SUB	TEMP	LU	GG.i	GG.f	TRATT. SPECIALI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Abutilon X hybridum hort.	C			7	21	
Achillea clavennae L.	C	20-30	L	5	14	
Achillea filipendulina Lam.	C	20-30	L	5	14	
Achillea millefolium L.	C	20-30	L	5	14	
Achillea ptarmica L.	C	20-30	L	5	14	
Adonis vernalis L.	C	15		14	35	Preref; KNO_3
Agastache foeniculum O. Kuntze	C	20	L	7	21	
Ageratum houstonianum Miller	C	20-30		5	14	
Agrimonia eupatoria L.	C	20-30		14	60	Prelav 24 h
Alcea rosea L.	C	20-30		7	21	
Althaea X hybrida hort.	C	20-30		7	21	
Althaea officinalis L.	C	20-30		7	21	
Alyssum argenteum All.	C	20		7	21	Preref;KNO_3
Alyssum montanum L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Alyssum saxatile L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Amaranthus caudatus L.	C	20-30		5	14	Preref;KNO_3
Amaranthus hybridus L.	C	20-30		5	14	Preref;KNO_3
Amaranthus paniculatus L.	C	20-30		5	14	Preref;KNO_3
Amaranthus tricolor L.	C	20-30		5	14	Preref;KNO_3
Amberboa moschata L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Ambrosinia mexicana L.	C	20	L	14	21	
Ammi majus L.	C	20	L	14	21	
Ammobium alatum R.Br.	C	20-30		7	14	
Anagallis arvensis L.	C	20-30		10	21	Preref;KNO_3
Anchusa azurea Miller	C	20-30		7	21	
Anchusa capensis Thunb.	C	20-30		7	21	
Anemone coronaria L.	C	20		14	28	Preref
Anemone silvestris L.	C	20		14	28	Preref
Angelica archangelica L.	C	20-30	L	10	28	Preref
Antirrhinum majus L.	C	20-30		7	21	Preref:KNO_3
Aquilegia alpina L.	C	20-30	L	14	28	Preref
Aquilegia canadensis L.	C	20-30	L	14	28	Preref
Aquilegia chrysantha A.Gray	C	20-30	L	14	28	Preref
Aquilegia X cultorum Bergmans	C	20-30	L	14	28	Preref
Aquilegia vulgaris L.	C	20-30	L	14	28	Preref
Arabis alpina L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Arabis X arendsii Wehrh.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Arabis blepharophylla Hook. et Arn.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Arabis caucasica Willd. ex Schldl.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Arabis procurrens Waldst. et Kit.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Arabis scopoliana Boiss.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Aralia sieboldii hort	C	20-30	L	7	21	
Arctotis stoechadifolia P.Bergius	C	20-30	L	7	21	
Armeria maritima (Miller) Willd.	C	20-30		7	21	KNO_3
Artemisia absinthium L.	C	20-30		7	21	
Artemisia dracunculus L.	C	20-30		7	21	
Artemisia maritima L.	C	20-30		7	21	
Artemisia vulgaris L.	C	20-30		7	21	
Asparagus densiflorus (Kunth) Jessop	C	20-30		14	35	Prelav. 24 h
Asparagus plumosus Bak	C	20-30		14	35	Prelav. 24 h
Asparagus setaceus (Kunth) Jessop	C	20-30		14	35	Prelav. 24 h
Asparagus sprengeri Reg	C	20-30		14	35	Prelav. 24 h
Aster alpinus L.	C	20-30		5	14	Preref
Aster amellus L.	C	20-30		5	14	Preref
Aster dumosus L.	C	20-30		5	14	Preref
Aubrieta deltoidea (L.)	C	20		7	21	Preref
Begonia semperflorens hort.	C	20-30		14	21	Preref
Begonia X tuberhybrida Voss	C	20-30		14	21	Preref
Bellis perennis L.	C	20-30		7	14	Preref
Brachycome iberidifolia Benth.	C	20-30		7	14	
Briza maxima L.	C	20-30		7	21	Preref
Browallia viscosa H.B.K.	C	20-30		7	21	
Brunnera macrophylla (Adams) I.M.Johnston	C	20-30		7	21	
Calceolaria X herbeohybrida Voss	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Calceolaria polyrrhiza Cav.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Calendula officinalis L.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Callistephus chinensis (L.) Nees	C	20-30	L	7	14	

Segue Allegato

SPECIE (Nome Botanico)	CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE SUB	TEMP	LU	GG.i	GG.f	TRATT. SPECIALI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Campanula carpatica Jacq.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula fragilis Cyr.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula garganica Ten.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula glomerata L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula lactiflora M.Bieb.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula medium L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula persicifolia L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula portenschlagiana Schultes	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula pyramidalis L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Campanula rapunculus L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Carthamus tinctorius L.	C	20		7	14	
Castalis tragus (Aiton) Norl.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Celosia argentea L.	C	20-30		5	14	Preref
Centaurea americana Nutt.	C	20-30	L	7	21	Preref;Prelav. 2h
Centaurea cyanus L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Centaurea dealbata Willd.	C	20-30	L	7	21	Preref
Centaurea gymnocarpa Moris et de Not.	C	20-30	L	7	21	Preref
Centaurea imperialis Hausskn. ex Bornm.,non hort.	C	20-30	L	7	21	Preref
Centaurea macrocephala Puschkin ex Willd.	C	20-30	L	7	21	Preref
Centaurea montana L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Centaurea ragusina L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Cerastium tomentosum L.	C	20-30		7	21	KNO_3
Cereus s.p.p.	C	20-30	L	7	21	
Cheiranthus cheiri L.	C	20-30	L	5	14	Preref;KNO_3
Chelidonium majus L.	C	20-30		14	28	Preref
Chrysanthemum carinatum Schousboe	C	20-30	L	7	21	Preref
Chrysanthemum coronarium L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Chrysanthemum multicaule Desf.	C	20-30	L	7	21	Preref
Chrysanthemum nivellei Braun-Blanquet et Maire	C	20-30		7	21	Preref
Chrysanthemum segetum L.	C	20-30		7	21	Preref
Clarkia amoena (Lehm.) Nelson et J.F.Macbr	C	20-30	L	7	14	Preref
Clarkia pulchella Pursh	C	20-30	L	5	14	Preref
Clarkia unguiculata Lindley	C	20-30	L	5	14	Preref
Cleome hassleriana Chodet	C	20-30		7	28	KNO_3
Cnicus benedictus L.	C	20-30		7	21	Preref
Cobaea scandens Cav.	C	20-30		7	21	
Coix lacrima-jobi L.	C	20-30		10	21	
Coleus blumei Benth.	C	20-30	L	7	21	
Consolida ambigua (L.) P.Ball et Heyw.	C	15		10	21	Preref
Consolida regalis Grey	C	15		10	21	Preref
Convolvulus tricolor L.	C	20-30		7	14	
Coreopsis cardaminifolia (DC.) Nutt.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Coreopsis coronata L.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Coreopsis drummondi (Don) Torrey et Gray	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Coreopsis lanceolata L.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Coreopsis maritima (Nutt.) Hook. f.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Coreopsis tinctoria Nutt.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Cosmos bipinnatus Cav.	C	20-30	L	5	14	Preref;KNO_3
Cosmos sulphureus Cav.	C	20-30	L	5	14	Preref;KNO_3
Craspedia globosa Bentham	C	20		14	21	
Cyclamen persicum Miller	C	20		21	35	KNO_3;Prelav. 24 h
Cymbalaria muralis P.Gaertn., Meyer et Scherb.	C	15		7	21	Preref
Cynoglossum amabile Stapf et J.R.Drumm.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Dahlia pinnata Cav.	C	20-30		7	21	Preref
Datura metel L.	C	20-30		7	21	Preref
Datura stramonium L.	C	20-30		7	21	Preref
Delphinium X belladonna hort.	C	15	L	10	21	Preref
Delphinium bellamosum L.	C	15	L	10	21	Preref
Delphinium cardinale Hook.	C	15		10	21	Preref
Delphinium X cultorum Voss	C	15	L	10	21	Preref
Delphinium formosum Boiss. et A.Huet	C	15	L	10	21	Preref
Delphinium grandiflorum L.	C	15	L	10	21	Preref
Dendrathema indicum (L.) Desm.	C	20-30	L	7	21	Preref
Dianthus barbatus L.	C	20-30		7	14	Preref
Dianthus caryophyllus L.	C	20-30		7	14	Preref

Segue Allegato

SPECIE (Nome Botanico)	CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE SUB	TEMP	LU	GG.i	GG.f	TRATT. SPECIALI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Dianthus chinensis L.	C	20-30		7	14	Preref
Dianthus deltoides L.	C	20-30		7	14	Preref
Dianthus plumarius L.	C	20-30		7	14	Preref
Digitalis lanata Ehrh.	C	20-30		7	14	Preref
Digitalis purpurea L.	C	20-30		7	14	Preref
Dimorphotheca pluvialis (L.) Moench	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Dizygotheca elegantissima (Veitch) R.Viguier et Guill.	C	20-30		14	28	
Doronicum orientale Hoffm.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Dorotheanthus bellidiformis (Burm. f.) N.E. Br.	C	15		7		
Echinacea purpurea (L.) Moench	C	20-30	L	7	35	Preref;KNO_3
Echinocactus s.p.p.	C	20-30	L	14	21	Preref
Echinops ritro L.	C	20-30		14	21	
Echium fastuosum Jacq.	C	20-30		7	21	
Echium plantagineum L.	C	20-30		7	14	
Erigeron speciosus (Lindley) DC.	C	20-30		7	14	
Eryngium planum L.	C	20		14	28	
Erysimum X allionii hort.	C	20-30		5	28	
Eschscholzia californica Cham.	C	15		7	14	Preref;KNO_3
Euphorbia variegata Pursh	C	20		7	14	KNO_3
Euphorbia marginata Pursh	C	18		7	14	
Fatsia japonica (Thunb. ex Murray) Decne. et Planchon	C	20-30		14	14	
Freesia refracta (Jacq.) Klatt	C	15		10	28	
Gaillardia aristata Pursh	C	20-30	L	7	35	Preref
Gaillardia pulchella Foug.	C	20-30	L	7	21	Preref
Galega officinalis L.	C	20-30		5	21	Preref
Galeopsis segetum Necker	C	20-30		7	14	Prelav. 24 h
Gazania rigens (L.) Gaertn.	C	20-30		7	21	Preref
Gazania splendens hort.	C	20-30	L	7	21	Preref
Gentiana acaulis L.	C	20-30		14	21	
Geranium hybridum hort.	C	20-30		7	28	Preref
Gerbera hybrida Bol. L.	C	20-30	L	7	28	
Gerbera jamesonij Bolus ex Hook f.	C	20-30	L	7	14	
Geum X borisij hort.	C	20-30	L	10	14	
Geum chiloense Balbis	C	20-30	L	10	21	
Gilia tricolor Benth.	C	20-30		7	21	
Gomphrena globosa L.	C	20-30		7	14	
Goniolimon tataricum (L.) Bois.	C	15		7	14	KNO_3
Grevillea robusta Cunn. ex R.Br.	C	20-30		10	21	Prelav. 24 h
Gypsophila elegans M.Bieb	C	20	L	7	28	Preref;KNO_3
Gypsophila paniculata L.	C	20	L	7	14	
Gypsophila repens L.	C	20	L	7	14	
Helenium autumnale L.	C	20-30		5	14	
Helianthemum nummularium (L.) Miller	C	20-30		7	14	
Helianthus debilis Nutt.	C	20-30		5	28	KNO_3
Helichrysum bracteatum (Vent.) Andrews	C	20-30	L	7	14	Preref
Heliopsis helianthoides (L.) Sweet	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Heliotropium arborescens (L.)	C	20-30		7	21	KNO_3;Prelav. 24 h
Helipterum humboldtianum (Gaudich.) DC.	C	20-30		14	21	
Helipterum manglesii (Lindley) F.Mueller	C	20-30		14	21	Preref
Helipterum roseum (Hook.) Benth.	C	20-30		14	21	Preref
Hesperis matronalis L.	C	20-30		7	21	Preref
Heuchera sanguinea Engelm.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Hibiscus trionum L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Hippeastrum hybridum hort.	C	20-30		10	21	
Hypericum perforatum L.	C	20-30		7	28	
Hyssopus officinalis L.	C	20-30	L	7	21	
Iberis amara L.	C	20-30		7	14	
Iberis gibraltarica L.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Iberis sempervirens L.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Iberis umbellata L.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Impatiens balsamina L.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Impatiens walleriana Hook. f.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Inula helenium L.	C	20-30		10	21	Preref;KNO_3
Ipomea alba L.	C	20-30		7	28	
Ipomea tricolor Cav.	C	20-30		7	21	
Kalanchoe blossfeldiana Poelln.	C	20-30		14	21	
Kalanchoe crenata (Andr.) Haw.	C	20-30		14	21	

Segue Allegato

SPECIE (Nome Botanico)	CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE SUB	TEMP	LU	GG.i	GG.f	TRATT. SPECIALI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Kalanchoe globulifera Perrier	C	20-30		14	21	
Kniphofia uvaria (L.) Hook	C	20-30		7	21	
Kochia scoparia (L.) Schrader	C	20-30		5	21	
Lathyrus latifolius L.	C	20		10	14	Preref;GA_3
Lathyrus odoratus L.	C	20		7	21	Preref
Lavandula angustifolia Miller	C	20-30		10	14	Preref
Lavatera trimestris L.	C	20-30		7	21	Preref;GA_3
Legousia speculum-veneris (L.) Chaix	C	20-30	L	7	21	Preref
Leontopodium alpinum Cass.	C	20-30		5	21	Preref
Leonurus cardiaca L.	C	20-30		7	14	Preref
Lepidium ruderale L.	C	15		7	42	Preref
Leucanthemum maxicum (Ram.) DC.	C	20-30	L	7	14	
Leucanthemum vulgare Lam.	C	20-30	L	7	21	Preref
Levisticum officinale Koch	C	20-30		10	21	Preref
Liatris pycnostachya Michaux	C	20-30		7	21	
Liatris spicata (L.) Willd.	C	20-30		7	28	
Lilium X formolongo Hort	C	15		21	28	
Lilium regale E. Wilson	C	20-30		7	35	
Limonium aureum (L.) Hill ex O. Kuntze	C	20		10	28	
Limonium bellidifolium (Gouan) Dumort	C	15		7	15	
Limonium bonduellei (Lestib. f.) Kuntze	C	20		7	21	
Limonium latifolium (Smith) Kuntze	C	15		7	21	Prelav. 24 h
Limonium perezii Hubbard ex L. N.Bailey	C	18		7	21	Prelav. 24 h
Limonium sinuatum (L.) Miller	C	15		7	14	
Linaria bipartita (Vent.) Wild.	C	15		7	21	Prelav. 24 h
Linaria maroccana Hook. f.	C	15		7	21	Preref
Linaria vulgaris Miller	C	15		7	21	Preref
Linum flavum L.	C	20-30		7	21	Preref
Linum grandiflorum Desf.	C	20		7	21	KNO_3
Linum narbonense L.	C	20-30		7	21	KNO_3
Linum perenne L.	C	20		7	21	KNO_3
Lithops s.p.p.	C	20-30		25	21	KNO_3
Lobelia cardinalis L.	C	20-30		14	21	
Lobelia erinus L.	C	20-30		14	21	Preref;KNO_3
Lobelia fulgens Willd.	C	20-30		14	21	Preref;KNO_3
Lobularia maritima (L.) Desv.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Lonas annua (L.) Vines et Druce	C	20-30		5	21	Preref;KNO_3
Lunaria annua L.	C	20		7	14	
Lupinus hartwegii Lindley	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Lupinus hybridus Hort.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Lupinus nanus Douglas	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Lupinus polyphyllus Lindley	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Lychnis chalcedonica L.	C	20-30	L	10	21	
Lychnis coronaria (L.) Desr.	C	20-30		10	21	
Malcolmia maritima (L.) R.Br.	C	20-30	L	5	21	
Malope trifida Cav.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Mamillaria s.p.p.	C	20-30	L	7	14	Preref
Marrubium vulgare L.	C	20-30		7	21	
Matricaria maritima L.	C	20-30		7	21	Preref
Matricaria perforata Merat	C	20-30		7	14	Preref
Matricaria recutita L.	C	20-30		7	14	Preref
Matthiola incana (L.) R.Br.	C	20-30		7	14	Preref
Matthiola longipetala (Vent.) DC.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Melissa officinalis L.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Mentha X piperita L.	C	20-30		14	21	Preref
Mimosa pudica L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Mimulus cardinalis Douglas ex Benth.	C	20-30		7	28	Prelav. 24 h
Mimulus cupreus hort. ex Dombr.	C	20-30		7	21	Preref
Mimulus X hybridus hort.					21	Preref
ex Siebert et Voss	C	20-30		7		
Mimulus luteus L.	C	20-30		7	21	Preref
Mirabilis jalapa L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Molucella laevis L.	C	20-30	L	7	14	Preref
Myosotis hybrida hort.	C	20-30	L	7	21	Preref
Myosotis scorpioides L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Myosotis sylvatica Ehrh. ex Hoffm.	C	20-30	L	7	21	Preref
Nemesia strumosa Benth.	C	20	L	7	21	Preref
Nemesia versicolor E.Meyer ex Benth.	C	20	L	7	21	Preref
Nemophila aurita Lindley	C	15		7	21	Preref
Nemophila maculata Benth. ex Lindley	C	15		7	21	Preref
Nemophila menziesii Hook. et Arn.	C	15		7	21	Preref

Segue Allegato

SPECIE (Nome Botanico)	CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE SUB	TEMP	LU	GG.i	GG.f	TRATT. SPECIALI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Nepeta cataria L.	C	20-30		14	21	Preref
Nicotiana alata Link et Otto	C	20-30		7	28	Preref
Nicotiana X sanderae Hort.					14	KNO_3
Sander ex Will. Watson	C	20-30		7		
Nicotiana suaveolens Lehm.	C	20-30		7	14	KNO_3
Nierenbergia hippomanica Miers	C	20-30		7	14	KNO_3
Nigella damascena L.	C	20-30		10	21	
Nigella hispanica L.	C	20-30		10	21	Preref;KNO_3
Nigella sativa L.	C	20-30		10	21	Preref;KNO_3
Nothocactus s.p.p.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Oenothera missouriensis Sims	C	20-30		7	21	
Osteospermum ecklonis (DC.) Norl.	C	20-30	L	7	21	KNO_3
Papaver alpinum L.	C	15		7	14	Preref;KNO_3
Papaver glaucum Boiss. et Hausskn.	C	15	L	7	14	KNO_3
Papaver nudicaule L.	C	15	L	7	14	KNO_3
Papaver orientale L.	C	20-30		7	14	KNO_3
Papaver rhoeas L.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Papaver somniferum L.	C	20-30	L	7	14	Preref;KNO_3
Pelargonium zonale hort.	C	20-30		7	14	
Penstemon barbatus (Cav.) Roth	C	20-30		7	28	
Penstemon hartwegii Benth.	C	20-30		7	21	Preref
Penstemon hybridus Grondl. et Rumpl.	C	20-30		7	21	Preref
Perilla frutescens (L.) Britton	C	20-30		7	21	Preref
Petunia X hybrida Vilm.	C	20-30		7	21	Preref
Phacelia campanularia A.Gray	C	15		5	14	Preref;KNO_3
Pharbitis purpurea (Roth.) Bojer	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Phlox drummondii Hook.	C	20-30		7	21	
Phlox paniculata L.	C	20		7	21	Preref;KNO_3
Phlox perennis L.	C	20		6	21	Preref;KNO_3
Phlox subulata L.	C	20		7	21	Preref;KNO_3
Physalis alkekengi L.	C	20-30	L	7	21	Preref;KNO_3
Pimpinella major (L.) Hudson	C	20-30		10	28	Preref;KNO_3
Pimpinella saxifraga L.	C	20-30		7	21	Preref
Plantago lanceolata L.	C	20-30		7	21	
Portulaca grandiflora Hook.	C	20-30	L	7	21	
Primula acaulis L.	C	20-30		7	14	Preref;KNO_3
Primula auricula L.	C	20-30		14	14	
Primula denticulata Smith	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula elatior (L.) Hill	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula japonica A.Gray	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula X kewensis Hort.	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula malacoides Franchet	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula obconica Hance	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula praenitens Ker-Gawl.	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula veris L.	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Primula vulgaris Hudson	C	20-30		14	28	Preref;KNO_3
Psylliostachys suworowii (Regel) Roshk.	C	15		7	28	Preref;KNO_3
Pulsatilla vulgaris Miller	C	20		14	21	Prelav. 24 h
Quamoclit vulgaris Choisy	C	20-30		7	28	Preref
Ranunculus asiaticus L.	C	20		14	21	
Reseda odorata L.	C	20-30	L	7	28	
Rheum palmatum L.	C	20-30		7	14	
Rudbeckia fulgida Aiton	C	20-30	L	7	21	
Rudbeckia hirta L.	C	20-30	L	7	21	Preref
Ruta graveolens L.	C	20-30		7	21	Preref
Saintpaulia ionantha H.Wendl	C	20-30		14	28	Preref
Salpiglossis sinuata Ruiz Lopez					28	
et Pavon	C	20-30	L	7		
Salvia coccinea Buc'hoz ex Etlinger	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Salvia farinacea Benth.	C	20-30		7	21	Preref
Salvia officinalis L.	C	20-30		7	21	Preref
Salvia patens Cav.	C	20-30		7	21	Preref
Salvia pratensis L.	C	20-30		7	21	Preref
Salvia sclarea L.	C	20-30		7	21	Preref
Salvia splendens Buc'hoz ex Etlinger	C	20-30		7	21	Preref
Salvia viridis L.	C	20-30		7	21	Preref
Sanvitalia procumbens Lam.	C	20-30		5	21	Preref
Saponaria calabrica Guss.	C	15	L	7	14	Preref
Saponaria ocymoides L.	C	15	L	7	21	Preref
Saponaria officinalis L.	C	15	L	7	21	Preref

Segue Allegato

SPECIE (Nome Botanico)	CONDIZIONI PER LA GERMINAZIONE SUB	TEMP	LU	GG.i	GG.f	TRATT. SPECIALI
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Scabiosa atropurpurea L.	C	20-30		7	21	Preref
Scabiosa caucasica M.Bieb.	C	20-30		7	21	Preref
Schizanthus pinnatus Ruiz Lopez et Pavon	C	15		7	21	Preref
Senecio bicolor (Willd.) Tod.	C	20-30		7	14	Preref
Senecio cruentus (Masson ex L'Her.) DC.	C	20-30		7	21	Preref
Senecio elegans L.	C	20-30		7	21	Preref
Silene pendula L.	C	20-30		14	21	Preref
Silybum marianum (L.) Gaertn.	C	20-30		7	28	KNO_3
Sinningia speciosa (Lodd.) Hiern	C	20-30		14	21	Preref
Solanum capsicastrum Link ex Schauer	C	20-30	L	7	28	Preref
Solanum giganteum Jacq.	C	20-30	L	7	28	KNO_3
Solanum lacinatum Aiton	C	20-30		7	28	KNO_3
Solanum marginatum L.f.	C	20-30	L	7	28	KNO_3
Stachys grandiflora (Steven ex Willd.) Benth.	C	20		7	28	KNO_3
Tagetes erecta L.	C	20-30	L	5	14	
Tagetes patula L.	C	20-30	L	5	14	
Tagetes tenuifolia Cav.	C	20-30	L	5	14	
Tanacetum achilleifolium (M.Bieb.) Schultz Bip.	C	20-30	L	7	14	
Tanacetum cinerariifolium (Trev.) Schultz Bip.	C	20-30		7	21	Preref
Tanacetum coccineum (willd.) Grierson	C	20-30	L	7	21	Preref
Tanacetum parthenium (L.) Schultz Bip.	C	20-30	L	7	21	Preref;KNO_3
Teloxys aristata (L.) Moq.	C	20		21	21	Preref
Thunbergia alata Bojer ex Sims	C	20-30		7	28	
Thymus serpyllum L.	C	20-30	L	7	21	
Torenia fournieri Linden	C	20-30		7	21	
Tropaeolum majus L.	C	20-30		7	14	KNO_3
Tropaeolum peltophorum Benth.	C	20		7	21	Preref
Tropaeolum peregrinum L.	C	20		7	21	Preref
Vaccaria hispanica (Miller) Rauschert	C	15	L	7	21	Preref
Valeriana officinalis L.	C	20-30		7	21	Preref
Verbascum densiflorum Bertol.	C	20-30		7	21	Preref
Verbascum phlomoides L.	C	20-30		7	21	Preref
Verbascum thapsus L.	C	20-30		7	21	Preref
Verbena bonariensis L.	C	20-30		10	21	Preref
Verbena canadensis (L.) Britton	C	20-30		10	28	Preref;KNO_3
Verbena hastata L.	C	15		14	28	Preref;KNO_3
Verbena X hybrida Voss	C	20-30		10	21	Preref;KNO_3
Verbena rigida Sprengel	C	20-30		10	28	Preref;KNO_3
Veronica lungifolia L.	C	15		10	28	Preref;KNO_3
Veronica virginica L.	C	15		10	15	
Vinca minor L.	C	20-30		7	15	
Viola cornuta L.	C	20-30		7	14	
Viola odorata L.	C	20		7	21	Preref;KNO_3
Viola tricolor L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Xeranthemum annuum L.	C	20-30		7	21	Preref;KNO_3
Zinnia elegans Jacq.	C	20-30	L	5	14	
Zinnia haageana Regel	C	20-30	L	5	10	Preref

Legenda:

(2): C - carta da filtro: umidità prossima alla saturazione

(3): temperatura

(4): luce

(5): giorni inizio germinazione

(6): giorni fine germinazione

IDENTIFICAZIONE VARIETALE DELLE SEMENTI MEDIANTE ELETTROFORESI. (1)

Principio

Le proteine estratte dai semi e separate mediante elettroforesi generano una sequenza di bande (elettroforegramma) che è correlata alla costituzione genetica e può essere considerata come "impronta digitale" della varietà. Tali elettroforegrammi consentono l'identificazione di campioni di semi o di singoli semi, di verificarne l'identità procedendo a confronto con varietà note o di caratterizzare varietà nuovè.

La separazione delle proteine può avvenire in elettroforesi tradizionale su gel di poliacrilammide (PAGE) sia in "nativa", cioè sull'estratto tal quale, sia in SDS (sodio dodecil solfato) denaturando l'estratto, che in elettroforesi capillare (EC).

METODO STANDARD PER L'IDENTIFICAZIONE VARIETALE DI FRUMENTO E ORZO CON ELETTROFORESI SU GEL DI POLIACRILAMMIDE (PAGE)

1. Introduzione e strumentazione

Le proteine solubili in alcol (gliadine del frumento e ordeine nell'orzo) vengono estratte dai semi e separate mediante PAGE a pH 3.2, con strumenti per elettroforesi verticale dotati di generatore di corrente (500 V).

Per conseguire una migliore precisione e ripetibilità di analisi si raccomanda l'adozione di sistemi automatizzati tipo Phas System.

2. Reagenti

Tutti i reagenti usati devono essere reagenti a "purezza analitica".
Acrilammide ("purificata per elettroforesi")
Bisacrilammide ("purificata per elettroforesi")
Urea
Acido Acetico Glaciale
Solfato ferroso
Acido ascorbico
Perossido di idrogeno (o persolfato di ammonio e TEMED - $NNN^1 N^1$-tetrametiletilendiammina)
Monotioglicerolo (o 2-mercaptoetanolo)
Pironina G (o verde metile)
Acido tricloroacetico
Etanolo
2-cloroetanolo
PAGE Blue G-90 (o PAGE Blue 83) (o qualsiasi altro reagente equivalente al colorante "Blu di Coomassie").

2.1 Soluzioni

a) Soluzione di estrazione
per il frumento: Pironina G (o verde di metile) allo 0.05% in 2-Cloroetanolo al 25% (tenere al freddo)
per l'orzo: Pironina G (o verde di metile) allo 0.05% in 2-Cloroetanolo al 20% contenente urea (18%) e monotioglicerolo (o 2-mercaptoetanolo) (1%) (tenere al freddo o prepararlo al momento)

(1) Da: ISTA Rules 1985 e successivi emendamenti.

b) Soluzione tampone per la vasca: acido acetico glaciale (4 ml) e glicina (0.4 g) portata a 1 litro con acqua; tenere al fresco.
c) Soluzione tampone per il gel: acido acetico glaciale (20 ml) e glicina (1.0 g) portata a 1 l con acqua; tenere al fresco.
d) Colorante: (1) acido tricloroacetico (100g) in 1 litro di acqua, (2) PAGE Blue G-90 (o PAGE Blue 83) (1 g) in etanolo (100 ml).

3. Procedimento

3.1 Preparazione del campione

I semi singoli vengono macinati e trasferiti in tubi da centrifuga di polipropilene da 1.5 ml. Viene aggiunta la soluzione estraente (0.2 ml per il frumento, 0.3 ml per l'orzo) e i tubi vengono fatti riposare tutta la notte a temperatura ambiente. Si effettua poi una centrifuga di questi a 18000 X (g) e il surnatante viene usato per l'elettroforesi. Gli estratti vengono normalmente conservati a 4 °C per 3-4 giorni.

3.2 Preparazione del gel

La cella di separazione pulita e asciutta viene assemblata secondo le istruzioni della casa costruttrice. Il trattamento delle lastre di vetro con silicone prima dell'assemblaggio può facilitare la successiva rimozione del gel. Le vaschette del gel possono avere un supporto in plastica (e.g. "Gel Bond PAG", FMC Corporation). Questa struttura sostiene il gel durante le operazioni successive. Per avere 100 ml di gel, vengono prelevati circa 60 ml della soluzione tampone e vengono aggiunti in sequenza acrilamide (10 g), bisacrilamide (0.4 g), urea (6 g), acido ascorbico (0.1 g), solfato ferroso (0.005 g). La soluzione viene fatta agitare e portata a 100 ml con la soluzione tampone. Viene aggiunta una soluzione fatta al momento allo 0.6% di perossido di idrogeno (0.35 ml per 100 ml di gel), mescolare velocemente e versare il gel. Notare che la miscela di gel può essere raffreddata fino quasi al congelamento prima di aggiungere il perossido. La polimerizzazione si completa in 5-10 minuti. Un "pettine" acrilico viene posto in cima alla vasca, per fare pozzetti nel gel. Il gel versato deve abbondantemente riempire la vasca, e questo si può fare anche con acqua, per poter assicurare una soddisfacente polimerizzazione della superficie superiore.

Come alternativa al perossido di idrogeno, che ha funzione di catalizzatore della polimerizzazione, è possibile usare solfato di ammonio (0.1 ml di una soluzione al 10%, preparata al momento) e TEMED (0.3 ml) aggiunti alla miscela del gel prima di versarlo.

3.3 Elettroforesi

Il pettine acrilico viene rimosso dal gel e i pozzetti per il campione vengono lavati con la soluzione tampone per la vasca. Quest'ultima viene riempita con un volume appropriato di tampone (a seconda dell'apparecchiatura usata). I campioni (10-20 ul) vengono posti ("caricati") nei pozzetti e il gel posto nella vasca, assicurandosi che i pozzetti stessi siano colmi.

L'elettroforesi viene fatta a 500 V (voltaggio costante) per due volte il tempo che la pironina G (colorante) impiega a scomparire dal gel, o tre volte se si utilizza come colorante il verde di metile. Sarebbe consigliabile inoltre far circolare l'acqua attraverso la vasca per mantenere la temperatura a 15-20 °C.

3.4 Fissaggio e colorazione

Il gel viene rimosso dalla vasca, e posto in una scatola di plastica contenente 5-10 ml di PAGE G90 allo 0.1% (o PAGE Blue 83) in 200 ml di acido tricloroacetico al 10%. La colorazione viene completata in 1-2 giorni e la decolorazione in genere non è necessaria. Il colorante che precipita si deve rimuovere dalla superficie del gel, che viene lavato in acqua per favorire la colorazione. Infine viene esaminato o fotografato. Qualsiasi "fondo" (background) blu nel gel viene rimosso lavando quest'ultimo in acido tricloroacetico al 10%. I gel si possono conservare in buste di polietilene a 4°C per molti mesi senza alcun danno o deterioramento.

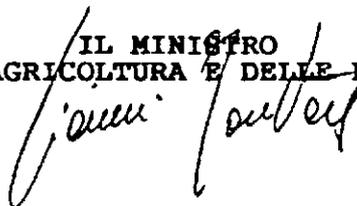
3.5. Identificazione delle bande delle gliadine e ordeine

Le bande delle ordeine e delle gliadine si possono identificare misurando le loro mobilità relative (Wrigley, C.W., Autran, J.C. e Bushuk, W., 1982, Advances in Cereal Science and Technology, 5, 211-259), sia mediante una formula elettroforetica (1) che mediante confronto diretto dei tracciati (2).

4. Valutazione del risultato

I risultati delle determinazioni vengono principalmente valutati con metodo comparativo, cioé mediante confronto della sequenza di bande o di tracciati elettroforetici con quelli delle varietà di riferimento. Di solito è utile includere in ogni lastra un campione di una varietà a sequenza proteica nota. Questo può servire come standard di qualità; se la sequenza di bande o il tracciato della varietà di riferimento si vede chiaramente, allora si può procedere nell'analisi per ulteriori informazioni. In aggiunta, il gel o il tracciato può essere tarato con l'inserimento di proteine standard di peso molecolare o punto isoelettrico noti, il che permette il calcolo del peso molecolare delle bande interessanti o il loro punto isoelettrico.

IL MINISTRO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

Fontana Fontana

(1) Konarev, V.B., Gavrilyuk, I.P., Gubareva, N.K. e Peneva, T.I., 1979, Cereal Chemistry, 56, 272-278.

(2) Shewry, P.R., Pratt, H.M., Faulks, A.J., Parmar, S. e Miflin, B.J., 1979, Journal of the National Institute of Agricultural Botany, 15, 5-40.

92A6166

FRANCESCO NIGRO, *direttore*

FRANCESCO NOCITA, *redattore*
ALFONSO ANDRIANI, *vice redattore*

(5651313) Roma - Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - S.

MODALITÀ PER LA VENDITA

La «Gazzetta Ufficiale» e tutte le altre pubblicazioni ufficiali sono in vendita al pubblico:

- **presso l'Agenzia dell'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato in ROMA, piazza G. Verdi, 10;**
- **presso le Concessionarie speciali di:**
  BARI, Libreria Laterza S.p.a., via Sparano, 134 - BOLOGNA, Libreria Ceruti, piazza dei Tribunali, 5/F - FIRENZE, Libreria Pirola (Etruria S.a.s.), via Cavour, 46/r - GENOVA, Libreria Baldaro, via XII Ottobre, 172/r - MILANO, Libreria concessionaria «Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato» S.r.l., Galleria Vittorio Emanuele, 3 - NAPOLI, Libreria Italiana, via Chiaia, 5 - PALERMO, Libreria Flaccovio SF, via Ruggero Settimo, 37 - ROMA, Libreria Il Tritone, via del Tritone, 61/A - TORINO, Cartiere Miliani Fabriano - S.p.a., via Cavour, 17;
- **presso le Librerie depositarie indicate nella pagina precedente.**

Le richieste per corrispondenza devono essere inviate all'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - Direzione Marketing e Commerciale - Piazza G. Verdi, 10 - 00100 Roma, versando l'importo, maggiorato delle spese di spedizione, a mezzo del c/c postale n. 387001. Le inserzioni, come da norme riportate nella testata della parte seconda, si ricevono in Roma (Ufficio inserzioni - Piazza G. Verdi, 10). Le suddette librerie concessionarie speciali possono accettare solamente gli avvisi consegnati a mano e accompagnati dal relativo importo.

PREZZI E CONDIZIONI DI ABBONAMENTO - 1993

Gli abbonamenti annuali hanno decorrenza dal 1° gennaio al 31 dicembre 1993
i semestrali dal 1° gennaio al 30 giugno 1993 e dal 1° luglio al 31 dicembre 1993

ALLA PARTE PRIMA - LEGISLATIVA

Ogni tipo di abbonamento comprende gli indici mensili

Tipo	Descrizione		Prezzo
Tipo A	Abbonamento ai fascicoli della serie generale, inclusi i supplementi ordinari:		
	- annuale	L.	**345.000**
	- semestrale	L.	**188.000**
Tipo B	Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata agli atti dei giudizi davanti alla Corte costituzionale:		
	- annuale	L.	**63.000**
	- semestrale	L.	**44.000**
Tipo C	Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata agli atti delle Comunità europee:		
	- annuale	L.	**193.000**
	- semestrale	L.	**105.000**
Tipo D	Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata alle leggi ed ai regolamenti regionali:		
	- annuale	L.	**63.000**
	- semestrale	L.	**44.000**
Tipo E	Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata ai concorsi indetti dallo Stato e dalle altre pubbliche amministrazioni:		
	- annuale	L.	**193.000**
	- semestrale	L.	**105.000**
Tipo F	Abbonamento ai fascicoli della serie generale, inclusi i supplementi ordinari, ed ai fascicoli delle quattro serie speciali:		
	- annuale	L.	**664.000**
	- semestrale	L.	**366.000**

Integrando il versamento relativo al tipo di abbonamento della Gazzetta Ufficiale, *parte prima, prescelto con la somma di* **L. 98.000**, *si avrà diritto a ricevere l'Indice repertorio annuale cronologico per materie 1993.*

Prezzo di vendita di un fascicolo della *serie generale*	L.	**1.300**
Prezzo di vendita di un fascicolo delle *serie speciali I, II e III*, ogni 16 pagine o frazione	L.	**1.300**
Prezzo di vendita di un fascicolo della *IV serie speciale «Concorsi ed esami»*	L.	**2.550**
Prezzo di vendita di un fascicolo *indici mensili*, ogni 16 pagine o frazione	L.	**1.300**
Supplementi ordinari per la vendita a fascicoli separati, ogni 16 pagine o frazione	L.	**1.400**
Supplementi straordinari per la vendita a fascicoli separati, ogni 16 pagine o frazione	L.	**1.400**

Supplemento straordinario «Bollettino delle estrazioni»

Abbonamento annuale	L.	**120.000**
Prezzo di vendita di un fascicolo ogni 16 pagine o frazione	L.	**1.400**

Supplemento straordinario «Conto riassuntivo del Tesoro»

Abbonamento annuale	L.	**78.000**
Prezzo di vendita di un fascicolo	L.	**7.350**

Gazzetta Ufficiale su MICROFICHES - 1993
(Serie generale - Supplementi ordinari - Serie speciali)

Abbonamento annuo mediante 52 spedizioni settimanali raccomandate	L.	**1.300.000**
Vendita singola: per ogni microfiches fino a 96 pagine cadauna	L.	**1.500**
per ogni 96 pagine successive	L.	**1.500**
Spese per imballaggio e spedizione raccomandata	L.	**4.000**

N.B. — Le microfiches sono disponibili dal 1° gennaio 1983. — Per l'estero i suddetti prezzi sono aumentati del 30%

ALLA PARTE SECONDA - INSERZIONI

Abbonamento annuale	L.	**325.000**
Abbonamento semestrale	L.	**198.000**
Prezzo di vendita di un fascicolo, ogni 16 pagine o frazione	L.	**1.450**

I prezzi di vendita, in abbonamento ed a fascicoli separati, per l'estero, nonché quelli di vendita dei fascicoli delle annate arretrate, compresi i fascicoli dei supplementi ordinari e straordinari, sono raddoppiati.

L'importo degli abbonamenti deve essere versato sul c/c postale n. 387001 intestato all'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato. L'invio dei fascicoli disguidati, che devono essere richiesti all'Amministrazione entro 30 giorni dalla data di pubblicazione, è subordinato alla trasmissione di una fascetta del relativo abbonamento.

Per informazioni o prenotazioni rivolgersi all'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - Piazza G. Verdi, 10 - 00100 ROMA
abbonamenti ☎ (06) 85082149/85082221 - vendita pubblicazioni ☎ (06) 85082150/85082276 - inserzioni ☎ (06) 85082145/85082189

* 4 1 1 2 0 0 0 0 2 0 9 3 *

L. 11.200